

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství

Katedra chemie

Testy akutní toxicity na nitěnkách, včetně určení
semichronické toxicity pro salát hlávkový a cibuli
pro vodný výluh stavebního odpadu

Diplomová práce

VŠB - Technická univerzita Ostrava
Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství
Katedra chemie

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Simona Sloviaková**
Studijní program: N3909 Procesní inženýrství
Studijní obor: 3911T008 Chemické a fyzikální metody zkoušení materiálů
Téma: **Testy akutní toxicity na nitěnkách, včetně určení semichronické toxicity pro salát hlávkový a cibuli pro vodný výluh stavebního odpadu**
Acute toxicity test on Tubifex tubifex, including the determination of semichronic toxicity for lettuce and onions of aqueous extracts for building waste

Jazyk vypracování: slovenština

Zásady pro vypracování:

1. Literární rešerše na stavební odpady a zkoušené ekotoxické testy.
2. Provedení akutního testu ekotoxicity na Tubifex tubifex pro výluh stavebního odpadu.
3. Provedení semichronického testu ekotoxicity na Lactuca sativa L. pro výluh stavebního odpadu.
4. Provedení semichronického testu ekotoxicity na cibuli pro výluh stavebního odpadu.
5. Základní chemická charakterizace stavebního odpadu.

Seznam doporučené odborné literatury:

1. FISKEŠJÖ, G. 1993. Technical methods section. Environmental toxicology and water quality. 8(4): 461-470.
2. KAONGA, C.C., J. KUMWENDA a H.T. MAPOMA. Accumulation of lead, cadmium, manganese, copper and zinc by sludge worms; Tubifex tubifex in sewage sludge. International journal of environmental science and technology. 7(1): 119-126.
3. ISO 17126: Soil quality – determinativ of the effects of pollutants on soil flora – screening test for emergence of lettuce seedlings (Lactuca sativa L.). 2005. 1. ISO Standards: International Organization for Standardization, Geneva.
4. 184. Zákon o odpadech a o změně některých dalších zákonů. In: 184. Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Praha: Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Praha, 2014, částka 75, číslo 184.
5. WILKE, B.M., F. RIEPERT, Ch. KOCH a T. KÜHNE. 2008. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. Ecotoxicology and Environmental Safety. 70(2): 283-293.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jiří Pavlovský, Ph.D.**

Datum zadání: 30.11.2015

Datum odevzdání: 22.04.2016



prof. Ing. Petr Praus, Ph.D.
vedoucí katedry



prof. Ing. Jana Dobrovská, CSc.
děkanka fakulty

Zásady pro vypracování diplomové práce

I.

Diplomovou prací (dále jen DP) se ověřují vědomosti a dovednosti, které student získal během studia, a jeho schopnosti využívat je při řešení teoretických i praktických problémů.

II.

Uspořádání diplomové práce:

- | | |
|--|------------------------------|
| 1. Titulní list | 6. Obsah DP |
| 2. Originál zadání DP | 7. Textová část DP |
| 3. Zásady pro vypracování DP | 8. Seznam použité literatury |
| 4. Prohlášení + místopřísežné prohlášení | 9. Přílohy |
| 5. Abstrakt + klíčová slova česky a anglicky | |

ad 1) Titulní list je koncipován podle požadavků příslušné oborové katedry.

ad 2) Originál zadání DP student obdrží na své oborové katedře.

ad 3) Tyto „Zásady pro vypracování diplomové práce“ následují za originálem zadání DP. („Zásady pro vypracování diplomové práce“ jsou ke stažení na webových stránkách fakulty).

ad 4) Prohlášení + místopřísežné prohlášení napsané na zvláštním listu (ke stažení na webových stránkách fakulty) a vlastnoručně podepsané studentem s uvedením data odevzdání DP. V případě, že DP vychází ze spolupráce s jinými právníckými a fyzickými osobami a obsahuje citlivé údaje, je na zvláštním listě vloženo prohlášení spolupracující právnícké nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP.

ad 5) Abstrakt a klíčová slova jsou uvedena na zvláštním listu česky a anglicky v rozsahu max. 1 strany pro obě jazykové verze.

ad 6) Obsah DP se uvádí na zvláštním listu. Zahrnuje názvy všech očíslovaných kapitol, podkapitol a statí textové části DP, odkaz na seznam příloh a seznam použité literatury, s uvedením příslušné stránky. Předpokládá se desetinné číslování.

ad 7) Textová část DP obvykle zahrnuje:

- Úvod, obsahující charakteristiku řešeného problému a cíle jeho řešení v souladu se zadáním DP;
- Vlastní rozpracování DP (včetně obrázků, tabulek, výpočtů) s dílčími závěry, vhodně členěné do kapitol a podkapitol podle povahy problému;
- Závěr, obsahující celkové hodnocení výsledků DP z hlediska stanoveného zadání.

DP bude zpracována v rozsahu min. cca 45 stran (včetně obsahu a seznamu použité literatury). V případě, kdy zadání DP vychází ze spolupráce se subjekty mimo VŠB -TU Ostrava a řešení studenta, týkající se citlivých dat spolupracujícího subjektu, je zpracováno v samostatné zprávě, tak zveřejněná část DP bude zpracována v rozsahu min. 25 stran a celkový rozsah DP bude min. 45 stran.

Text musí být napsán vhodným textovým editorem počítače po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4 při respektování následující doporučené úpravy - písmo Times New Roman 12b; řádkování 1,5; okraje – horní, dolní – 2,5 cm, levý – 3 cm, pravý 2 cm, zarovnání do bloku. Fotografie, schémata, obrázky, tabulky musí být očíslovány a musí na ně být v textu poukázáno.

Budou zařazeny průběžně v textu, pouze je-li to nezbytně nutné, jako přílohy (viz ad 9). Odborná terminologie práce musí odpovídat platným normám. Všechny výpočty musí být přehledně uspořádány tak, aby každý odborník byl schopen přezkoušet jejich správnost. Matematické vzorce musí být číslovány (v kulatých závorkách). U vzorců, údajů a hodnot převzatých z odborné literatury nebo z praxe musí být uveden jejich pramen - u literatury citován číselným odkazem (v hranatých závorkách) na seznam použité literatury. Nedostatky ve způsobu vyjadřování, nedostatky gramatické, neopravené chyby v textu mohou snížit klasifikaci práce.

ad 8) DP bude obsahovat alespoň 15 literárních odkazů, z toho nejméně 5 v některém ze světových jazyků.

Seznam použité literatury se píše na zvláštním listě. **Citaci literatury je nutno uvádět důsledně v souladu s ČSN ISO 690.** Na práce uvedené v seznamu použité literatury musí být uveden odkaz v textu DP.

ad 9) Přílohy budou obsahovat jen ty části (speciální výpočty, zdrojové texty programů aj.), které nelze vhodně včlenit do vlastní textové části např. z důvodu ztráty srozumitelnosti.

III.

Diplomovou práci student odevzdá ve dvou knihařsky svázaných vyhotoveních, pokud katedra garantující studijní obor neurčí jiný počet. Vnější desky budou označeny takto:

nahoře: *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*
Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství
Katedra

uprostřed: *DIPLOMOVÁ PRÁCE*

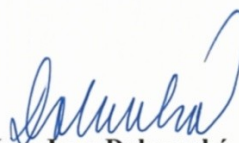
dole: *Rok* *Jméno a příjmení*

Kromě těchto dvou knihařsky svázaných výtisků odevzdá student kompletní DP také v elektronické formě do IS EDISON. Práce vložená v elektronické formě do IS EDISON se musí zcela shodovat s prací odevzdanou v tištěné formě. Po vložení DP do IS EDISON bude provedena její kontrola na plagiátorství.

IV.

Nesplnění výše uvedených zásad pro vypracování diplomové práce může být důvodem nepřijetí práce k obhajobě. O nepřijetí práce k obhajobě rozhoduje v tomto případě garant příslušného studijního oboru. Tyto zásady jsou závazné pro studenty všech studijních programů a forem navazujícího magisterského studia Fakulty metalurgie a materiálového inženýrství Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava od akademického roku 2015/2016.

Ostrava 2. 11. 2015


Prof. Ing. Jana Dobrovská, CSc.
děkanka Fakulty metalurgie a materiálového inženýrství
VŠB-TU Ostrava

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- jsem byl(a) seznámen(a) s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. - autorský zákon, zejména §35 - užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního (§60 - školní dílo);
- beru na vědomí, že Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB - TUO) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§35 odst. 3);
- souhlasím s tím, že diplomová práce bude archivována v elektronické formě v databázi Ústřední knihovny VŠB - TUO a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO;
- bylo sjednáno, že s VŠB - TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu §12 odst. 4 autorského zákona;
- bylo sjednáno, že užít své dílo - diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB - TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB - TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že odevzdáním své diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (Zákon o vysokých školách) bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Místopřísežně prohlašuji, že jsem celou diplomovou práci vypracoval(a) samostatně.

V Ostravě 22.4.2016

Simona Plaváková
.....
podpis (jméno a příjmení studenta)

Na tomto mieste by som sa chcela poďakovať vedúcemu práce pánovi Ing. Jiřímu Pavlovskému, Ph.D. za odborné vedenie diplomovej práce, venovaný čas, rady a pripomienky.

Zároveň by som sa chcela poďakovať všetkým, ktorí mi poskytli pomoc pri vytváraní experimentálnej časti tejto práce, predovšetkým pani doc. Ing. Šárke Langovej, CSc. za odborný dohľad počas stanovenia kovov vo výluhoch vzoriek metódou AAS, tiež pani doc. Mgr. Lucii Bartoňovej, Ph.D. za odborné rady a konzultácie k metóde XRFS a pani Ing. Soni Študentovej za poskytnuté konzultácie k textúrnej analýze vzoriek. V neposlednom rade sa chcem poďakovať pani Ing. Michaelae Topinkovej za jej čas a ochotu pri príprave vzorky stavebného odpadu.

ABSTRAKT

Odpad v stavebníctve bol uznaný ako jeden z hlavných problémov v dôsledku jeho negatívneho vplyvu na Zem. Efektívny spôsob znižovania narastajúceho množstva stavebného odpadu predstavuje recyklácia, ktorou klesá jeho škodlivý vplyv pre životné prostredie. Potenciálne toxický stavebný odpad môže spôsobiť negatívny dopad predovšetkým na vodný ekosystém prostredníctvom uvoľňovania rozpustných zložiek odpadu v dôsledku kontaktu s vodou. Posúdenie vhodnosti stavebného odpadu pre opätovné použitie sa realizuje podľa výsledkov ekotoxikologických testov jeho vodného výluhu. V semichronických testoch ekotoxicity na rastlinách šalát hlávkový (*Lactuca sativa* L.) a cibuľa biela (*Allium cepa* L.) bol hodnotený vplyv vodného výluhu odpadu na inhibíciu rastu koreňa a stanovené hodnoty IC50. Ekotoxická bola posúdená aj na základe stanovených hodnôt EC50 akútnymi testami na nitelnicach (*Tubifex tubifex*) a perloočkách (*Daphnia magna*).

Kľúčové slová: stavebný odpad, ekotoxická, šalát hlávkový, cibuľa kuchynská, nitelnice, perloočka

ABSTRACT

Waste in the construction industry has been recognized as one of the main problem due to its negative effect on the Earth. Effective way to reduce increasing amounts of construction waste is represented by recycling which decreases its harmful effect for environment. Potentially toxic construction waste may cause a negative influence mainly on the aquatic ecosystem through release of soluble components during the contact with water. The assessment of the suitability of construction waste for reuse is based on the results of ecotoxicity tests of its water leachate. In semichronic ecotoxicity tests using plants of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and onion (*Allium cepa* L.) the effect of waste water leachate on root growth inhibition was evaluated and IC50 values were determined. The ecotoxicity was assessed also based on determined values EC50 of acute toxicity tests on tubifex worms (*Tubifex tubifex*) and daphnia (*Daphnia magna*).

Keywords: construction waste, ecotoxicity, lettuce, onion, tubifex worms, daphnia

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. CIELE DIPLOMOVEJ PRÁCE.....	2
3. TEORETICKÁ ČASŤ	1
3.1. Charakteristika a rozdelenie stavebných odpadov	3
3.1.1. Zloženie stavebných a demolačných odpadov	3
3.2. Využitie stavebných odpadov	4
3.3. Toxické látky v stavebných odpadoch a ich vplyv na životné prostredie	5
3.4. Ekotoxikologické biotesty	6
3.4.1. Klasifikácia ekotoxikologických biotestov	7
3.4.2. Testy akútnej toxicity	8
3.4.3. Testy semichronickej toxicity	9
3.4.4. Význam ekotoxikologických testov	9
3.5. Ekotoxikologické testovanie stavebných odpadov	10
3.5.1. Postup stanovenia ekotoxicity odpadu	11
3.5.2. Interpretácia výsledkov	13
3.6. Charakteristika testovaných organizmov	15
3.6.1. Šalát hlávkový	15
3.6.2. Cibuľa kuchynská	16
3.6.3. Niteľnica	17
3.6.4. Perloočka	17
3.7. Príklady štúdií ekotoxicity stavebných a priemyselných odpadov	18
4. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	21
4.1. Vzorková základňa	21
4.2. Použité chemikálie	21

4.3.	Použité materiály	23
4.4.	Použité prístroje a pomôcky	23
4.5.	Príprava vzoriek stavebného odpadu a popolčeka	25
4.5.1.	Stanovenie podielu sušiny vzoriek popolčeka a stavebného odpadu	25
4.5.2.	Príprava vodného výluhu vzoriek	26
4.5.3.	Stanovenie pH a konduktivity vodných výluhov vzoriek	26
4.6.	Test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom	27
4.6.1.	Test semichronickej toxicity na šaláte pre $K_2Cr_2O_7$	27
4.6.2.	Test semichronickej toxicity na šaláte pre vodné výluhy popolčeka a stavebného odpadu	28
4.7.	Test semichronickej toxicity na cibuli kuchynskej	30
4.7.1.	Test semichronickej toxicity na cibuli pre $K_2Cr_2O_7$	30
4.7.2.	Test semichronickej toxicity na cibuli pre vodné výluhy popolčeka a stavebného odpadu	31
4.8.	Test akútnej toxicity na nitelnicích	31
4.8.1.	Test akútnej toxicity na nitelnicích pre $MnCl_2 \cdot 2H_2O$	31
4.8.2.	Test akútnej toxicity na nitelnicích pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka	32
4.9.	Test akútnej toxicity na perloočkách	33
4.9.1.	Test akútnej toxicity na perloočkách pre $K_2Cr_2O_7$	33
4.9.2.	Test akútnej toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka	34
5.	VÝSLEDKY A DISKUSIA	34
5.1.	Výsledky stanovenia podielu sušiny, vlhkosti a množstva vylúhovacej kvapaliny	34
5.2.	Výsledky stanovenia pH, vodivosti, odporu, salinity a obsahu rozpustených solí	35
5.3.	Vybrané inštrumentálne analýzy	36
5.3.1.	Stanovenie obsahu prvkov a zlúčenín vo vzorkách metódou XRFS	36
5.3.2.	Stanovenie obsahu vybraných prvkov metódou AAS.....	37

5.4.	Vyhodnotenie textúrnych parametrov vzoriek stavebného odpadu a popolčeka	38
5.5.	Kontakný test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom pre vzorky stavebného odpadu a popolčeka	39
5.6.	Test semichronickej toxicity na cibuli kuchynskej pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka	43
5.7.	Test akútnej toxicity na nitel'niciach pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka	47
5.8.	Test akútnej toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka	51
5.9.	Porovnanie výsledkov vybraných testov s výsledkami niektorých štúdií.....	55
6.	ZÁVER.....	57
7.	LITERATÚRA	60
8.	PRÍLOHY	66
9.	ZOZNAM OBRÁZKOV.....	76
10.	ZOZNAM TABULIEK.....	77
11.	ZOZNAM GRAFOV.....	78

1. ÚVOD

V súčasnej dobe predstavuje narastajúci objem stavebného odpadu jeden z problémov ochrany životného prostredia. V Českej republike tvoria stavebné a demolačné odpady významný podiel z celkového množstva odpadov, ale takmer všetok odpad sa opätovne využíva ako náhrada prírodných surovín. Recykláciou stavebných odpadov sa tak odstraňujú skládky využiteľných materiálov, čím sa znižuje negatívny vplyv na živé organizmy. Prítomnosť škodlivých látok však môže zabrániť ich ďalšiemu využitiu. Jednou z nebezpečných vlastností odpadu je Ekotoxická H14, ktorá sa stanovuje podľa postupu Metodického pokynu odboru odpadov v súlade s požiadavkami platnej legislatívy. Hodnotenie sa prevádza na základe výsledkov testovania toxicity vodných výluhov na predpísaných organizmoch. Ekotoxikologické testy v laboratórnych podmienkach modelujú účinky odpadu pri ich kontakte s vodou, kde dochádza k uvoľňovaniu rozpustných zložiek odpadov, ovplyvňujúcich organizmy vodného prostredia.

Táto diplomová práca je preto zameraná na stanovenie semichronickej a akútnej toxicity pre vodný výluh stavebného odpadu a tiež vodný výluh popolčeka. Testovacími organizmami pre testy semichronickej toxicity boli šalát hlávkový (*Lactuca sativa L.*) a cibuľa kuchynská (*Allium cepa L.*). Testy akútnej toxicity vodného výluhu stavebného odpadu a popolčeka boli prevedené na nitelnicích (*Tubifex tubifex*) a perloočkách (*Daphnia magna*).

Táto diplomová práca vznikla na Fakulte metalurgie a materiálového inženýrství při řešení projektu č. LO1203 “Regionální materiálově technologické výskumné centrum - Program udržitelnosti“ financovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

2. CIELE DIPLOMOVEJ PRÁCE

Cieľom diplomovej práce bolo zistiť ekotoxikologické účinky vodných výluhov stavebného odpadu pre vybrané rastliny a živočíchy.

Medzi ciele diplomovej práce patria:

1. Prevedenie literárnej rešerše zameranej na stavebné odpady a skúšané ekotoxikologické testy.
2. Prevedenie akútneho testu ekotoxicity na *Tubifex tubifex* pre výluh stavebného odpadu.
3. Prevedenie semichronického testu ekotoxicity na *Lactuca sativa* L. pre výluh stavebného odpadu.
4. Prevedenie semichronického testu ekotoxicity na *Allium cepa* L. pre výluh stavebného odpadu.
5. Základná chemická charakterizácia stavebného odpadu.

Vyššie uvedené ekotoxikologické testy umožnili stanovenie koncentrácie, pri ktorých je vodný výluh stavebného odpadu pre daný organizmus toxický. V semichronických testoch toxicity bola stanovená inhibícia rastu koreňa šalátu (*Lactuca sativa* L.) za 96 hodín a cibule (*Allium cepa* L.) za 72 hodín pre vodný výluh stavebného odpadu. Určenie imobilizácie a mortality testovaných jedincov v danom čase a pre danú koncentráciu vodného výluhu stavebného odpadu bolo podstatou vyhodnotenia testu akútnej toxicity na niteľniciach (*Tubifex tubifex*).

Nad rámec tejto práce bola v semichronických testoch stanovená inhibícia rastu koreňa šalátu (*Lactuca sativa* L.) za 96 hodín a cibule (*Allium cepa* L.) za 72 hodín, imobilizácia a mortalita na niteľniciach pre popolček a tiež imobilizácia a mortalita pre vodné výluhy stavebného odpadu a popolčeka na perloočkách (*Daphnia magna*) za 24 a 48 hodín vrámci akútnych testov toxicity.

3. TEORETICKÁ ČASŤ

3.1. Charakteristika a rozdelenie stavebných odpadov

Odpad vznikajúci pri zriaďovaní stavieb, pri ich údržbe, zmenách dokončených stavieb i odstraňovaní stavieb, sa považuje za stavebný odpad [1]. V podstate zahŕňa zvyšky nového stavebného materiálu, ale i materiály použité na stavbe, obaly a každý iný odpad prítomný na stavenisku [2]. Stavebné a demolačné odpady tvoria viac než polovicu produkcie všetkých odpadov [3]. Medzi hlavné faktory, ktoré ovplyvňujú vznik odpadov počas výstavby budov patrí stavebný plán, veľkosť projektu, typ stavby, spôsob skladovania materiálu, zlyhanie ľudského faktora, technická chyba atď. Veľké množstvo odpadu môžu produkovať i demolačné aktivity. Občianske a infraštruktúrne stavby zahŕňujú projekty, ako napríklad cesty, diaľnice, mosty, letiská, priehrady a iné, pričom tento druh projektov je zvyčajne zdrojom masívneho množstva odpadu [4]. Podľa Vyhlášky MŽP č. 381/2001 Sb. je stanovený Katalóg odpadov vrátane zoznamu nebezpečných odpadov, zoznamu odpadov a štátu pre účely vývozu, dovozu a tranzitu odpadov a postupu pri udeľovaní súhlasu k vývozu, dovozu a tranzitu odpadov (Katalóg odpadov), v znení neskorších predpisov [4].

3.1.1. Zloženie stavebných a demolačných odpadov

Európsky katalóg odpadov (smernica 75/442/EHS a 94/904/ES) klasifikuje stavebný a demolačný odpad z hľadiska jeho zloženia do ôsmich nasledovných skupín:

- zmes betónu, tehál, dlaždíc a keramiky,
- drevo, sklo a plasty,
- asfaltové zmesi, asfaltové chodníky a ďalšie asfaltové materiály,
- kovy (vrátane ich zliatin),
- zemina (vrátane pôdy získanej z kontaminovaných oblastí), kamene, vyhlíbená pôda,
- izolačné materiály a stavebné materiály obsahujúce azbest,
- materiály na báze sadry,
- zmiešané stavebné a demolačné materiály [5].

Stavebný a demolačný odpad obvykle obsahuje aj malé množstvo organického odpadu ako napríklad potraviny alebo obaly, ktoré boli zanechané na stavenisku zamestnancami

počas výstavby, respektíve demolácie budov [5]. Skladba zmiešaného odpadu (stavebného a demolačného) je uvedená v tab. 1.

Tab. 1: Skladba zmiešaného stavebného a demolačného odpadu [2].

zložka	podiel [hm. %]
inertný materiál	30
kov	7
drevo	15
papier	1
sklo	3
piesok	7
horľavina	10
nerecyklovateľný odpad	25

Pozn.:

Vlhkosť pravdepodobne predstavuje v skladbe zmiešaného stavebného a demolačného odpadu zvyšné 2 hm. %.

3.2. Využitie stavebných odpadov

Veľká časť stavebných odpadov je recyklovateľná [6]. Sú významným zdrojom druhotných surovín [3]. V súčasnej dobe sa využíva najmä tehlový recyklát, betónový a asfaltový recyklát [6]. Okrem betónu je možné recyklovať i zvyšky muriva zahŕňajúci ľahké betónové tvárnice, vysokopecné trosky tehál a kvádrov, keramické tehly, pálenú hlinu a ďalšie zložky strešných krytín [7]. V stavebníctve sa využíva i popolček ako náhrada niektorých zložiek stavebných materiálov. Popolček býva súčasťou zmesi s ďalšími materiálmi ako je vápno, cement či troska [8]. Je prítomný v betónových chodníkoch, základoch ciest, konštrukčných výplní, násypov atď. [9]. Získané materiály je možné použiť do rôznych nových konštrukčných vrstiev, ale i na iné účely [2]. Recyklácia stavebných a demolačných odpadov prináša znižovanie ťažby surovín a nákladov potrebných na výrobu nových stavebných materiálov [10]. Zabezpečenie vhodných pracovných postupov recyklácie vyžaduje, aby bol stavebný odpad odobraný a separovaný už na stavenisku a nečistoty ihneď oddelené [2]. Odpady pochádzajúce z výstavby a demolácie budov môžu okrem hodnotných materiálov obsahovať i kontaminanty [7]. Prítomné znečisťujúce látky môžu vplývať na opätovné použitie odpadov a taktiež na životné prostredie. Z tohto dôvodu sa využívajú metodiky, podľa ktorých sa posudzujú ich riziká pre životné prostredie a majú široké použitie v oblasti nakladania s odpadmi [11]. Pri opätovnom použití odpadových materiálov je preto nutné prihliadať na to, či sa z nich uvoľňujú organické a anorganické škodlivé látky [12].

3.3. Toxické látky v stavebných odpadoch a ich vplyv na životné prostredie

Charakterizácia nebezpečnosti odpadov úzko súvisí so smernicou o nebezpečných látkach, ktorá umožňovala rozdelenie odpadu podľa chemického zloženia a R-viet [13]. V súčasnej dobe sa v Európskej únii k označeniu rizík chemických látok využívajú tzv. H vety (H-phrases), odvodené od slova „Hazard“. Tieto vety sú súčasťou systému GHS (*The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals*), ktorý je charakterizovaný v nasledovnej podkapitole [14]. Zatiaľ čo niektoré prvky, ako As, Hg, Cd, Se, Th, sú toxické už v malých dávkach, toxicita iných prvkov, ako napríklad Zn, Pb, Ni, Co, je závislá na dávke a ich množstve. Väčšina stavebných odpadov je inertná ako betón, tehly, piesok, štrk a ďalšie. Malý zlomok odpadu obsahuje chemické látky, ktoré sú nebezpečné pre ľudské zdravie i životné prostredie [15]. Medzi nebezpečné zložky v stavebných a demolačných odpadoch sa zaraďujú napríklad azbestové izolácie a strešné krytiny, náterové hmoty, lepidlá, riedidlá, impregnácie dreva a omietok, neželezné kovy, neinertné zložky ako plasty, pryž, sadra a ďalšie. Nebezpečnosť nemäkčeného PVC spočíva v tom, že obsahuje organicky viazaný chlór. Niektoré nátery sú nebezpečné z dôvodu obsahu zlúčenín cínu, ortuti a olova. Obsah polyaromatických uhlíkovodíkov v usadeninách na stenách komínov sa taktiež zaraďuje medzi toxické zložky odpadu [16]. Súčasťou strešných krytín, glazúr na keramiku či vodných potrubí je olovo, ktoré sa do organizmu môže dostať požitím alebo inhaláciou [17]. Kamenivo recyklované zo stavebných a demolačných odpadov môže okrem inertných zložiek obsahovať aj nebezpečné materiály ako sú niektoré kovy a chemické zlúčeniny, ktoré tak môžu kontaminovať okolité prostredie. Aj napriek tomu sa čoraz častejšie používajú ako náhrada za prírodné kamenivo [18]. Špeciálne pravidlá platia pre zaobchádzanie s odpadmi obsahujúcimi azbest, ktorý je nerozpustný vo vode, ale jeho škodlivý vplyv (hlavne karcinogenita) na zdravie vyplýva z jeho vláknitej štruktúry [15].

Pre posúdenie nebezpečnosti odpadu je dôležitá miera škodlivosti prvkov vstupujúcich do výrobného procesu, ktorá nezávisí len na ich všeobecnej biotoxícite. Pri posudzovaní škodlivosti prvkov sa vychádza z rady hľadísk, ako napríklad koncentrácia a forma výskytu daného prvku v odpadných produktoch, biotoxická konkrétna forma prvku atď. [19]. Vplyv týchto materiálov na životné prostredie nie je určený celkovým množstvom škodlivých látok v materiáli, ale množstvom rozpustným vo vode, prostredníctvom ktorej sa dostávajú do pôdy [20]. Tieto toxické látky tak kontamináciou povrchových a podzemných vôd môžu spôsobiť vážne environmentálne problémy [21]. Namiesto analýzy celkového obsahu

kontaminantov sa preto analyzujú vzorky vodného výluhu odpadu, pričom rozpustnosť látok je ovplyvňovaná mnohými faktormi vrátane zloženia materiálu, pH, doby kontaktu daného materiálu s vodou v určitom pomere [22]. Významný vplyv na proces lúhovania majú aj vlastnosti samotného materiálu, ktoré možno rozdeliť na chemické, kam sa zaraďuje napríklad chemické zloženie vodnej fázy v póroch materiálu a fyzikálne, ako napríklad mechanizmus uvoľňovania látok [23]. Uvoľňovanie látok z materiálu je rozdielne pre monolitické materiály (napr. betón) a sypké materiály. Pre monolitické materiály je typické uvoľňovanie zložiek v dôsledku difúzie. Príčinou uvoľňovania látok u sypkých materiálov je presakovanie vody materiálom, resp. perkolácia [24]. Hlavné nebezpečné odpady vznikajúce pri demoláciách budov a obsah nebezpečných látok v týchto odpadoch je uvedený v tab. 2.

Tab. 2: Hlavné nebezpečné odpady produkované pri demoláciách budov a nebezpečné látky obsiahnuté v týchto odpadoch [15].

nebezpečný odpad	nebezpečné látky obsiahnuté v odpade
žiarovky	ortuť
azbest (eternit)	azbest
ošetrované drevo	arzén, chlór, pentachlórfenol, kreozot, lindan
farby na báze olova	olovo
olovené rúrky	olovo
povrchová úprava asfaltom	PAH
batérie z núdzového osvetlenia	olovo, kadmium
klimatizácia	hydrochlórofluorokarbón
spojovací materiál	PCB

3.4. Ekotoxikologické biotesty

Ekotoxikologický biotest je definovaný ako test, pri ktorom je testovací systém exponovaný za presne definovaných podmienok rôznymi koncentráciami skúmanej chemickej látky alebo zmiešanej či prírodnej vzorky [25]. Ich výstupom je sledovaná odpoveď testovaného systému. Testovacím systémom môže byť živý organizmus, tkanivo, populácia či spoločenstvo organizmov [26]. Pokiaľ zachytávajú celkové toxické účinky všetkých prítomných látok v testovaných vzorkách, považujeme ich za nešpecifické. Špecifické biotesty sú zamerané na prítomnosť určitých toxických látok alebo konkrétnych toxických účinkov. V testoch toxicity môže byť všeobecne sledovaná ako odozva organizmu nie len mortalita, ale aj inhibícia rastu, imobilizácia, zmeny správania, poškodenie DNA, zmeny rýchlosti reakcií, zmeny v rýchlosti rozmnožovania atď. [27, 28]. Testy umožňujú rozdelenie chemických látok podľa ich akútnej toxicity pre vodné organizmy do kategórií, ktoré sú uvedené v tab. 3.

Tab. 3: Rozdelenie chemických látok do kategórií podľa akútnej toxicity pre vodné organizmy [29].

kategória	96hLC50 (ryby), 48hEC50 (perloočky), 72hIC50 (riasy) [mg/l]	toxicita
I	≤ 1	vysoko toxické látky
II	1 - 10	toxické látky
III	10 - 100	škodlivé látky

Pozn.:

LC50 - smrteľná koncentrácia pre 50 % pokusných jedincov,

EC50 - efektívna koncentrácia, pri ktorej reaguje 50 % pokusných jedincov,

IC50 - koncentrácia, ktorá spôsobí 50% inhibíciu testovaného organizmu [27].

Smernice OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) [30] predstavujú zbierku medzinárodne schválených testovacích metód, ktoré sa používajú na určenie bezpečnosti chemických látok a chemických prípravkov vrátane pesticídov a priemyselných chemikálií. Pokyny k testom toxicity podľa OECD zahrňujú testy bezpečnosti chemikálií vzťahujúce sa k ich fyzikálno-chemickým vlastnostiam, účinkom na biotické systémy, osudu týchto látok v životnom prostredí, účinkom na zdravie atď. Sú medzinárodne uznávané ako štandardné metódy, ktoré sú podrobené pravidelnej aktualizácii pre udržanie kroku s vývojom v oblasti vedy [30].

Medzinárodne uznávaným systémom pre klasifikáciu a označovanie nebezpečných chemických látok je globálne harmonizovaný systém (GHS – *The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals*) [31]. Tento systém rozdeľuje látky vzhľadom k ich fyzikálnym vlastnostiam, nebezpečnosti pre životné prostredie a ochrany zdravia prostredníctvom viet o nebezpečnosti a piktogramov označujúcich nebezpečenstvo a jeho závažnosť [31].

3.4.1. Klasifikácia ekotoxikologických biotestov

Ekotoxikologické biotesty je možné triediť podľa rôznych kritérií, pričom jeden a ten istý test sa môže vyskytovať v rôznych skupinách súčasne. Klasifikácia je možná napríklad podľa nasledovných kritérií:

- podľa doby expozície: akútne, semiakútne (semichronické), chronické testy,
- podľa trofickej úrovne testovaných organizmov: testy s producentmi, konzumentmi a deštruentmi [32],

- podľa pokročilosti designu testovacieho systému: testy 1. generácie – klasické testy s intaktnými organizmami, testy 2. generácie – mikrobiotesty a testy 3. generácie – biosenzory, biosondy a biomarkery [33],
- podľa cieľového ekosystému: sladkovodné, morské, pôdne, sedimenty,
- podľa testovanej matrice: voda, pôda, vzduch, sediment, odpad, chemická látka,
- podľa počtu testovaných organizmov: jednodruhové, viacdruhové s prírodnými spoločenstvami alebo laboratórnymi zmesami druhov,
- podľa zložitosti testovanej vzorky: čisté chemické látky, zmesi látok, prírodné vzorky,
- podľa spôsobu prípravy vzorky: definované koncentrácie chemických látok, testovanie výluhov alebo extraktov prírodných vzoriek, priame testy environmentálnych matric napríklad kontaminovanej pôdy, sedimentov, odpadných vôd,
- podľa stupňa komplexnosti detekčného systému: enzýmy, biosondy, bunkové a tkanivové kultúry, intaktný organizmus, populácia, spoločenstvo,
- podľa sledovanej odpovede: letálne alebo subletálne účinky, hodnotenie fyziologickej aktivity, reprodukčná aktivita [32].

3.4.2. Testy akútnej toxicity

Testy akútnej toxicity sú krátkodobé testy, ktoré slúžia k meraniu účinkov toxických látok na testované organizmy počas ich krátkej doby života. Testy vyhodnocujú účinky na prežité za 24 až 96 hodín [34]. Cieľom testov akútnej toxicity je stanovenie letálnej koncentrácie LC50 [27]. LC50 je štatisticky vypočítaná dávka, u ktorej sa očakáva, že po podaní spôsobí úhyn 50 % živočíchov v danom období. Táto hodnota má význam v prípade zaradenia chemických látok z toxikologického hľadiska [35]. LC50 sa vyjadruje v jednotkách ppm, mg/l alebo mg/m³ a pod. [31]. V prípade testovania akútnej toxicity vodných výluhov sa doba testu pohybuje v krátkych intervaloch, napríklad test na nitelnicích prebieha 3 až 4 minúty, ale existujú i testy prevádzané za dlhší časový interval, ako je napríklad test na žiabronôžkach, ktorý trvá 24 až 48 hodín [27]. V posledných rokoch sa kladie dôraz na vývoj alternatívnych metód, ktoré nie sú vykonávané na stavovcoch [35]. Medzi alternatívne testy patrí i stanovenie akútnej letálnej koncentrácie LC50 testovanej látky, napríklad na nitelnicích [27].

Akútna toxicita na živočíchoch sa obvykle stanovuje podľa vzorca (1):

$$M_{m,c} = \frac{N_m}{N_0} \cdot 100, \quad (1)$$

kde $M_{m,c}$ je mortalita jedincov v danom čase v percentách pre toxickú látku, N_m je priemerný počet uhynutých jedincov v danej koncentrácii toxickéj látky, N_0 je pôvodný počet živých jedincov v danej koncentrácii látky [27].

3.4.3. Testy semichronickej toxicity

Na rozdiel od akútnej toxicity sa sleduje na semenách rastlín a líši sa i v interpretácii výsledkov. Napriek tomu, že pracovným postupom sú si s akútnou toxicitou podobné a rozdielna je len doba expozície toxickéj látky, výsledky je nutné prezentovať podľa príslušného testu a vzorca pre výpočet.

U semichronickej toxicity sa inhibícia rastu koreňa stanovuje podľa vzorca (2):

$$I = \frac{H_k - H_{Vi}}{H_k} \cdot 100, \quad (2)$$

kde I je inhibícia rastu koreňa v %, H_k je hodnota meraného znaku v kontrole (skrátene dĺžky, tzv. elongácia koreňa v mm pri kontrole - slepé stanovenie) a H_{Vi} je hodnota meraného znaku v danej koncentrácii testovanej vzorky (meranie elongácie koreňa v mm pre jednotlivé koncentrácie) [27].

3.4.4. Význam ekotoxikologických testov

Organizmy získavajú toxické látky z prostredia spolu so živinami a vodou. Niektoré toxíny sa metabolizujú a vylučujú, iné sa hromadia v určitých tkanivách. Vzhľadom k ich kapacite sa ponúka možnosť sledovania distribúcie toxických látok v životnom prostredí [36]. Ekotoxikologické biotesty spolu s chemickými analýzami umožňujú posúdiť nepriaznivé účinky na životné prostredie bez ohľadu na zloženie a charakter testovaného odpadu. Význam týchto testov spočíva predovšetkým v identifikácii a hodnotení rizika najmä z hľadiska vstupu kontaminantov z pôdy do podzemnej vody. Realizujú sa na úrovni producent/konzument/deštruent. V hodnotení a interpretácii výluhov odpadov patrí medzi najväčšie zdroje variability výber vhodnej metódy vylúhovateľnosti a vhodného detekčného systému [37]. Súčasťou ekotoxikologickej činnosti je hodnotenie vplyvu už existujúcich

chemických látok na životné prostredie a hodnotenie miest v minulosti kontaminovaných priemyselnou, poľnohospodárskou alebo inou činnosťou. Hodnotenie je pritom založené na stanoveniach toxicity kontaminovaných materiálov, napríklad pôd, vody, sedimentov, hornín a ďalších, ktoré slúžia ako podklad pre návrh ďalších opatrení. Významným je i sledovanie varovných príznakov negatívneho vplyvu chemických látok na organizmy, ako napríklad náhly úhyn niektorých druhov živočíchov alebo rastlín [38].

Z hľadiska praktickej aplikácie je možné rozdeliť testy toxicity do dvoch hlavných skupín:

- testy toxicity zamerané na odhad možných toxických účinkov na človeka,
- testy toxicity poskytujúce informácie o možných nepriaznivých účinkov látok a ich zmesí na životné prostredie [39].

Chemické stanovenie toxických látok v životnom prostredí a testy toxicity sú vzájomne sa dopĺňujúcimi nástrojmi popisujúce stav kvality životného prostredia. Umožňujú totiž odpovedať jednak na otázky súvisiace so zložením vzoriek a taktiež i na otázky ich biologických účinkov [39].

3.5. Ekotoxikologické testovanie stavebných odpadov

Ekotoxikita je definovaná ako vlastnosť odpadu predstavujúca akútne či neskoré nebezpečie pre jednu alebo viac zložiek životného prostredia. Je ukazovateľom pre hodnotenie odpadov z hľadiska rozhodnutia ich využitia na povrchu terénu podľa vyhlášky č. 294/2005 Sb. a pre hodnotenie nebezpečnosti odpadu H14 Ekotoxikita podľa vyhlášky č. 376/2001 Sb [1]. Výsledky testovania na jednom mikroorganizme by nemali byť prijaté za presvedčivé vyhodnotenie ekotoxikity [40]. Hodnotenie vlastností potenciálne nebezpečných pre životné prostredie by malo vyžadovať testovanie na organizmoch rôznych trofických úrovni reprezentujúcich vodné i suchozemské prostredie. Podmienkou dosiahnutia reprodukovateľných a porovnateľných výsledkov je použitie postupu, ktorý popisuje samotné testovanie i podmienky prípravy [41].

Ekotoxikologické testy vodného výluhu odpadu sa podľa prílohy č. 1 a 3 k vyhláške č. 376/2001 Sb. pri určitej dobe prevádzajú na nasledovných testovaných organizmoch:

- gupka dúhová (*Poecilia reticulata*), alebo danio pruhované (*Brachydanio rerio*), (doba pôsobenia 96 hod.),

- perloočka veľká (*Daphnia magna*), (doba pôsobenia 48 hod.),
- riasy (*Desmodesmus subspicatus*, *Scenedesmus subspicatus*), (doba pôsobenia 72 hod.),
- semeno horčice bielej (*Sinapis alba* L.), (doba pôsobenia 72 hod.) [1].

Testované organizmy sú dôležitými článkami ekosystémov, ktoré môžu vykazovať rôznu citlivosť k rôznym látkam prítomným v odpade a uvoľneným do vodného výluhu. V prípade stanovenia ekotoxicity sú rozhodujúce výsledky testu najcitlivejšieho organizmu. Za nebezpečný sa považuje odpad, pokiaľ jeho vodný výluh vykazuje na jednom z uvedených testovaných organizmov LC (EC, IC) $50 \leq 10 \text{ ml/l}$ [1].

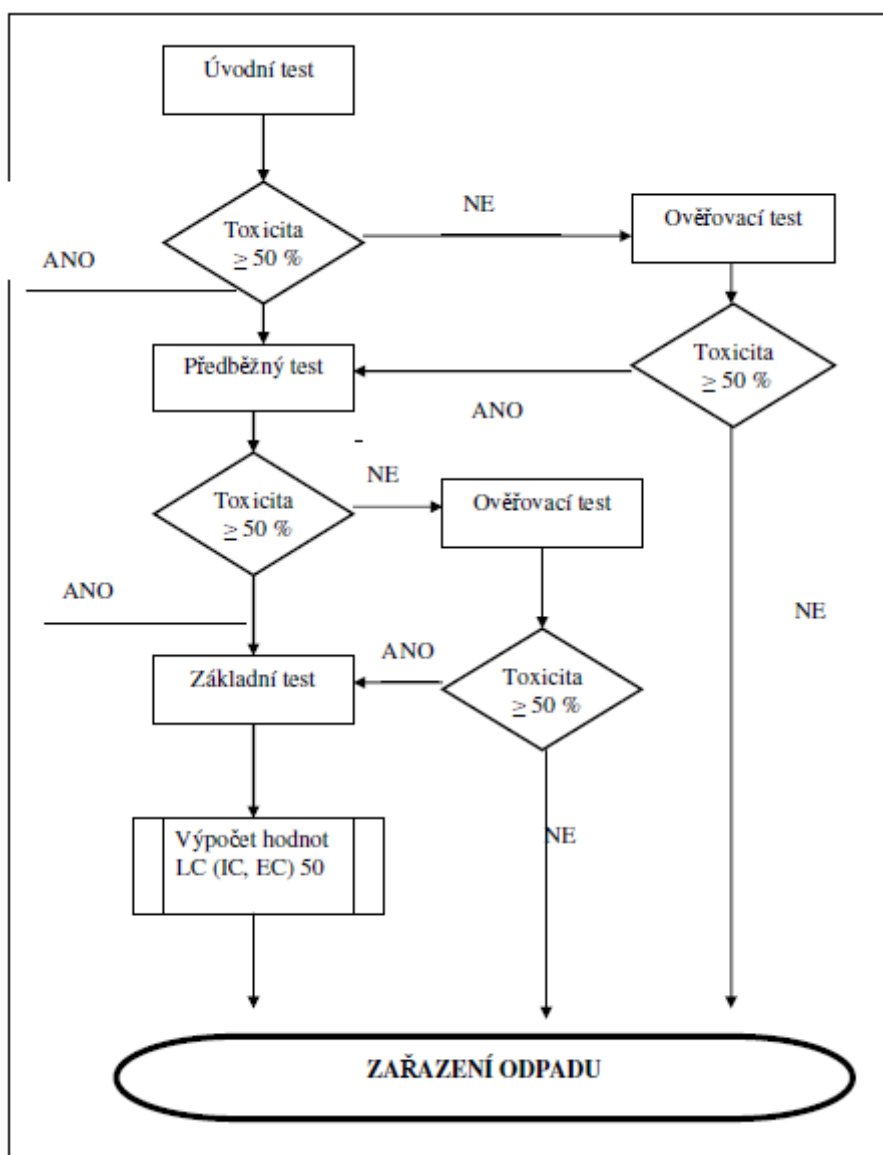
Medzi štandardné ekotoxikologické testy, ktoré sa prevádzajú v Českej republike podľa platnej legislatívy patria:

- ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod - Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (*Teleostei*, *Cyprinidae*)] - Část 2: Obnovovací metoda [42].
- ČSN EN ISO 8692 Jakost vod - Zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas [42].
- ČSN EN ISO 6341 Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) - Zkouška akutní toxicity [42].
- Test inhibice růstu kořene hořice bílé (*Sinapis alba* L.). Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ke stanovení ekotoxicity odpadů [42].

3.5.1. Postup stanovenia ekotoxicity odpadu

Postupy pre testy ekotoxicity odpadov sú určené metodickým pokynom odboru odpadov Ministerstva životného prostredia Českej republiky a zakladajú sa na výsledkoch toxicity ich vodných výluhov na určených skúšobných organizmoch. Stanovenie ekotoxicity prevádzanej v laboratórnych podmienkach modeluje účinky odpadu pri kontakte s vodou, ktorý spôsobuje uvoľňovanie rozpustných zložiek odpadu ovplyvňujúcich testované organizmy prítomné vo vodnom prostredí. Prevádzajú sa testy akútnej toxicity vodného výluhu odpadu, ktorý sa pripravuje podľa normy ČSN EN 12457-4 [43]. Najskôr sa prevádza predbežný test, ktorému je podrobený roztok, pripravený z neriedeného vodného výluhu odpadu [1]. Predbežný test zahŕňa dve paralelné stanovenia s dvoma kontrolami. Ak je výsledok predbežného testu negatívny, vyžaduje sa prevedenie overovacieho testu v šiestich

paralelných nasadeniach, viz obr. 1 [44]. Pokiaľ výsledky predbežného testu vykazujú toxický účinok pre ≥ 50 % testovaných organizmov, pristupuje sa k orientačnému testu s využitím vhodne zvoleného rozsahu koncentrácií vodného výluhu odpadu. Koncentračný rozsah vodného výluhu by mal odpovedať toxickému účinku pre 0 - 100 % testovaných organizmov [1]. Obvykle sa do každej koncentrácie nasadzujú 4 organizmy. Využíva sa k získaniu najvyššej koncentrácie látky, ktorá nespôsobuje úhyn, prípadne tzv. imobilizáciu organizmov (OC0) a najnižšiu koncentráciu, pri ktorej dochádza k usmrteniu organizmov. Základným testom sa stanovuje EC50, ktorá sa udáva v mg/l alebo ml/l, viz obr. 1. Prevádza sa v siedmich roztokoch vodného výluhu v koncentračnom rozmedzí určeným pomocou orientačného testu. Počet mŕtvych alebo imobilizovaných organizmov sa odčíta po 24, 48 alebo 72 hod., niekedy aj po 96 hodinách [26, 44].



Obr. 1: Diagram postupu hodnotenia nebezpečnej vlastnosti H14 Ekotoxická [1].

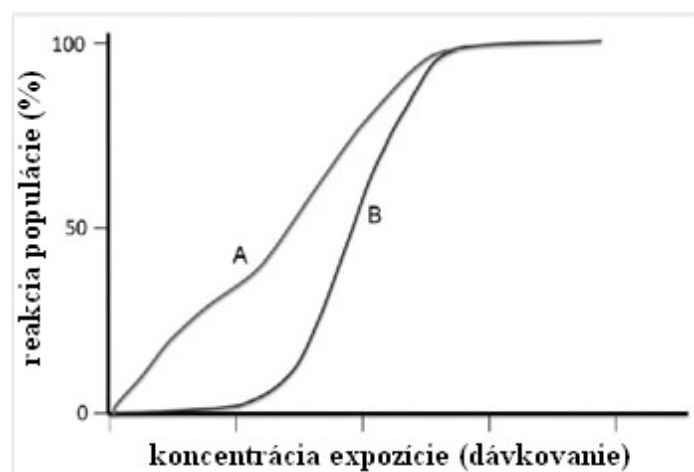
3.5.2. Interpretácia výsledkov

Ak výsledok overovacieho testu vykazuje imobilizáciu alebo úhyn testovaných organizmov menší než 10 % v porovnaní s kontrolou, tak test možno považovať za negatívny. Hodnotu EC50 nemožno zistiť pokiaľ je overovacím testom stanovený úhyn menší než 50 %. Pozitívny výsledok testu sa hodnotí v prípade úhynu alebo imobilizácie viac než 50 % jedincov. Následne sa udáva hodnota EC50 či IC50 prípadne LC50 [44]. Hodnota EC50 je tým nižšia, čím je hodnotená látka alebo vzorka toxickejšia, čiže vyvoláva požadovaný účinok pri nižšej koncentrácii. Okrem hodnoty EC50 sa používajú i hodnoty EC20, EC10, EC05, ktoré popisujú účinky zasahujúce nižší podiel testovaných organizmov [39]. Koncentrácie látok, ktoré boli bezprostredne testované v experimente a ich významnosť bola overená štatistickým porovnaním s kontrolou, sa nazývajú určené indexy. Najčastejšie používanými určenými indexmi sú NOEC a LOEC [32].

LOEC (*Lowest Observed Effect Concentration*) je najnižšia testovaná koncentrácia, pri ktorej má sledovaná látka štatisticky významný účinok v porovnaní s kontrolou v stanovenú expozičnú dobu [44].

NOEC (*No Observed Effect Concetration*) predstavuje najvyššiu testovanú koncentráciu, ktorá nespôsobí žiadny štatisticky merateľný účinok na testovanom systéme [46].

Výsledkom testovania toxicity je tzv. krivka dávka-odpoveď a hodnoty získané zo spomínanej závislosti [38]. Krivka dávka-odpoveď je grafické znázornenie odpovede organizmu, populácie alebo biologického spoločenstva k sérii koncentrácií toxikantu. Z uvedenej krivky možno zistiť koncentráciu, ktorá spôsobí meraný účinok pre 50 % testovaných organizmov [28]. Krivka môže mať rôzny tvar v závislosti na vlastnostiach látky i testovaného organizmu, ale z praktického hľadiska sa predpokladá sigmoidálna závislosť účinku strednej hodnoty odpovede organizmu v % na logaritme koncentrácie [32].



Obr. 2: Znázornenie možných kriviek dávka-odpoveď [31].

Krivky, viz obr. 2, predstavujú závislosť dávky na percentuálnej odpovedi populácie ovplyvnenej dávkami toxikantu. Krivka A predstavuje zlúčeninu, ktorá má vplyv na isté percento populácie a to aj pri malých dávkach. Krivka B predstavuje zlúčeninu, ktorá má efekt iba nad prahom dávky [31].

Štandardná krivka dávka-odpoveď, u ktorej sa predpokladá sigmoidálny priebeh, je definovaná nasledujúcimi parametrami:

- spodnou limitnou hladinou - dnom,
- hornou limitnou hladinou - stropom,
- prahom,
- smernicou,
- inflexným bodom, ktorý odpovedá koncentrácii toxikantu v polovici vzdialenosti medzi dnom a stropom [32].

Homogénny nárast účinku odpovede testovaného organizmu s rastúcou koncentráciou toxikantu platí pre určitý koncentračný rozsah, teda rozsah koncentrácií, nad tzv. prahovou koncentráciou, ktorá odpovedá nenulovému účinku toxikantu [32]. Najjednoduchšie je vyniesť hodnoty mortality oproti logaritmom koncentrácií a závislosť vyjadriť pomocou lineárnej regresie. Inflexný bod krivky odpovedá hodnote EC50 [45]. Zvyčajne sa výsledok mortality prevádza na probity a vyjadruje sa teda tzv. probitová krivka, z dôvodu takmer lineárnej závislosti probitov na logaritmu koncentrácie, čo vyúsťuje k vyššej presnosti vyhodnocovaných dát [27]. Podmienkou transformácie percentuálnych dát odpovedi organizmov na probity je získanie aspoň dvoch parciálnych účinkov, teda koncentrácií, pri ktorých bola zaznamenaná odpoveď väčšia než 0 % a menšia než 100 % [32].

Okrem dokumentov popisujúcich odber a úpravu vzorky, prípravu vodných výluhov a vlastné testy ekotoxicity (plán odberu vzoriek, protokol o odbere vzorky, protokol o skúške) metodický pokyn odboru odpadov odporúča dôkladnú dokumentáciu všetkých odchýlok od štandardných postupov pre zaručenie opakovateľnosti jednotlivých procesov [1]. Pre prezentáciu získaných ekotoxikologických dát sa odporúča okrem hodnoty EC50 a intervalov spoľahlivosti uvádzať i metódu jeho výpočtu a parameter EC50/NOEC alebo EC50/LOEC. Parameter NOEC alebo LOEC sa osvedčili ako vhodná doplnková hodnota pre porovnanie toxických účinkov rôznych vzoriek [47].

3.6. Charakteristika testovaných organizmov

3.6.1. Šalát hlávkový

Šalát hlávkový (*Lactuca sativa* L.), viz obr. 3, použitý v testoch semichronickej toxicity vzoriek je pôvodom zo Stredomoria a Blízkeho východu a v súčasnosti sa pestuje v záhradách po celom svete. Listy vyrastajúce zo základnej ružice šalátu môžu byť až 15 cm dlhé, voľne alebo tesne zhlukované [48]. Stanovenie ekotoxicity vzoriek je možné na základe hodnotenia rastu koreňa šalátu za štandardných podmienok v porovnaní s kontrolou. Metóda je vhodná pre testovanie ekotoxicity zemín, kalov, stavebných odpadov a výrobkov i pevných odpadov. V teste semichronickej toxicity sa používa šalát hlávkový k rýchlenu (*Lactuca sativa* var. *Capitata*), odroda Safír. Vyberajú sa len nepoškodené semená rovnakej veľkosti, ktoré sú chemicky neošetrené. Prevádza sa meranie dĺžky koreňa šalátu v kontrole a testovanej vzorke po dobu (120 ± 2) hod. inkubácie pre pôdy a (96 ± 2) hod. pre odpady. Výsledok testovania sa vyhodnocuje ako štatisticky významný rozdiel v dĺžke koreňa testovanej vzorky v porovnaní s kontrolou, prípadne sa stanoví hodnota EC50 [49].



Obr. 3: Šalát hlávkový (*Lactuca sativa* L.) [50].

3.6.2. Cibuľa kuchynská

Cibuľa kuchynská (*Allium cepa* L.), viz obr. 4, využívaná na stanovenie semichronickej toxicity je celosvetovo pestovaná trvalka, ktorá sa zaraďuje do čeľade ľaliovitých. Existuje niekoľko druhov, pričom väčšina cibuliek má bielu, žltú alebo červenú farbu. Zelené stonky a listy cibule sú duté a môžu dosiahnuť výšku až 1 m. Malé kvety majú bielu alebo svetlofialovú farbu. Plody cibule okrem využitia v kuchyni svoje uplatnenie nachádzajú i v lekárstve najmä pri liečbe respiračných ochorení [51]. Cibuľa je veľmi citlivá na fytotoxické účinky látok [52]. Testy sa prevádzajú na cibuľkách *Allium cepa* L. o priemernej veľkosti približne 1,5 cm, ktoré sú nepoškodené a chemicky neošetrené. Môže sa stanoviť vo vzorkách prírodných, pitných, odpadných vôd z domácností i priemyslu vrátane hodnotenia kalov a výluhov z odpadov. Využíva sa i k hodnoteniu toxických účinkov chemických látok rozpustných vo vode a v organických rozpúšťadlách. Inhibícia rastu koreňov sa sleduje po dobu 48 alebo 72 hodín v porovnaní s kontrolou pri teplote približne 20 °C [53]. Miera toxicity látky je vyjadrená ako inhibícia rastu koreňa cibule. K zastaveniu rastu koreňa môže dôjsť i v prípade zlého pH a prítomnosti nerozpustných látok, ktoré by bránili príjmu živín. Cieľom testovania je zistenie hodnoty EC50 [27].



Obr. 4: Kvet a plod cibule kuchynskej (*Allium cepa* L.) [54].

3.6.3. Nitel'nica

Akútnu toxicitu možno stanoviť na nitel'niciach (*Tubifex tubifex*), viz obr. 5, ktoré zvyčajne žijú v sedimentoch jazier, riek, prípadne kanalizačných potrubí. Nazývajú sa tiež červy odpadných kalov alebo červy splaškových odpadných vôd. Ako jedny z mála živých organizmov dokážu prežiť v oblastiach silne znečistených organickými látkami [55]. Tieto organizmy žijú zavŕtané hlavou v bahne a dýchajú zadnou časťou svojho tela [27]. Sú schopné prežiť s malým množstvom kyslíka vďaka pohybu chvosta, na konci ktorého majú uložené veľké množstvo hemoglobínu umožňujúceho výmenu oxidu uhličitého za kyslík [55]. Ako potravu prijímajú sedimenty, čím získavajú výživu, ktorá je selektívne trávená baktériami a absorbovaná molekulami v stenách ich tela [36]. Kvôli citlivosti na znečistenie vôd priemyselnými a chemickými látkami sú vhodné pre testovanie ekotoxicity chemických látok. Vhodné je použiť 6 až 10 nitel'níc o veľkosti 2 až 4 cm, ktoré sa čerstvé kúpia v akvaristickom obchode. Sleduje sa imobilita a mortalita nitel'níc od nasadenia a to presne po 3 minútach alebo po 24, 48 a 96 hodinách od ich nasadenia do jednotlivých roztokov. Test sa prevádza paralelne a mortalita sa určuje v percentách, prípadne sa prevedie na probity [27].



Obr. 5: Nitel'nica (*Tubifex tubifex*) [56].

3.6.4. Perloočka

Testy akútnej toxicity sa prevádzajú i na perloočke (*Daphnia magna*), viz obr. 6, ktorá je súčasťou sladkovodného zooplanktónu [57]. Perloočky sú malé vodné kôrovce o rozmeroch 1 - 5 mm. Žijú v sladkých vodách, niektoré i v moriach a často sa vyskytujú vo veľkých množstvách. Jedince sa vyvíjajú priamo bez larválnych štádií. V priebehu roka sa uskutoční jeden alebo niekoľko biologických cyklov, v ktorých sa zvyčajne strieda niekoľko

generácií partenogenetických samíc s obojpohlavnou generáciou, ktorá uzaviera cyklus. Živia sa planktónom a organickým detritom. Predstavujú živý zdroj potravy pre ryby, preto majú významné miesto vo vodnej biocenóze a potravinovom reťazci. Test sa prevádza podľa ČSN EN ISO 6341 [57]. Ešte pred vlastným testom sa vyžaduje rozmnoženie dostatočného množstva organizmov. Stanovenie sa prevádza na jedincoch mladších než 24 hodín. Chovajú sa v kadičkách o objeme 250 ml a pravidelne sa kŕmia zelenou riasou *Desmodesmus subspicatus*. Kultivátor je osvetľovaný v pravidelných cykloch 16 hodín svetlo, 8 hodín tma pri optimálnej teplote chovu 20 - 25 °C. Výsledkom je stanovenie hodnoty EC50 pre 24 a 48 hodín [57].



Obr. 6: Perloočka (*Daphnia magna*) [58].

3.7. Príklady štúdií ekotoxicity stavebných a priemyselných odpadov

V tejto kapitole sú uvedené vybrané štúdie, ktoré sa zaoberali posudzovaním ekotoxicity najmä stavebných a priemyselných odpadov za posledných päť rokov.

V štúdiu [59] (2011), ktorá bola zameraná na návrh a overenie novej sady skúšok pre hodnotenie ekotoxicity odpadov, prevádzala terestické skúšky na štyroch odpadoch - zemina, kal z čistiare premyslených odpadových vôd, popolček zo spaľovne odpadov a kompost. V štyroch laboratóriách boli prevedené nasledovné terestické skúšky:

- ČSN ISO 11267 (836451) Kvalita pôdy - Inhibice reprodukce chvostokoků (*Folsomia candida*) látkami znečišťujícími půdu,
- ČSN ISO 16387 (836450) Kvalita pôdy - Vliv znečišťujících látek na *Enchytraeidae* (*Enchytraeus sp.*) - Stanovení vlivu na reprodukci a na přežití,
- ČSN EN ISO 11269-1, ASTM E 1963-09 Zkouška inhibice růstu kořene rostlin (*Lactuca sativa* L.) [59].

Ako kontrola a zároveň riediace médium, bola použitá centrálne pripravená umelá pôda (UP jednotná), umelá pôda pripravená v každom laboratóriu (UP vlastná) a štandardná pôda LUFA [59].

K najvyššej inhibícií rastu koreňa šalátu *Lactuca sativa* L. dochádzalo u vzorky popolčeka. Z pohľadu citlivosti terestických skúšok bola preukázaná najvyššia citlivosť na prítomnú kontamináciu u šalátu. Autori štúdie [59] uvádzajú, že terestické skúšky zahrňujú efekt matrice, ktorá bez ohľadu na prítomnosť kontaminantov môže mať negatívny vplyv na organizmy, alebo môže ovplyvňovať chovanie kontaminantu. Odporúča sa zaradenie terestických skúšok do platnej legislatívy vrátane návrhu limitných hodnôt. Tiež navrhujú aktualizáciu akvatických skúšok ekotoxicity, keďže ich použitím môže byť podhodnotený toxický účinok málo rozpustných alebo nerozpustných látok vo vode [59].

Odborný príspevok [60] (2013) bol zameraný na hodnotenie ekotoxicity vodných výluhov pripravených podľa normy ČSN EN 12457-4 [43] nasledovných vzoriek: č. 1, 2 - piesky s rôznou zrnitosťou, č. 3, 4 - škvary, č. 5, 6 - sklá, č. 7, 8 - energosádrovce z rôznych lokalít. V práci boli použité štandardné ekotoxikologické testy podľa platnej legislatívy pre ekotoxikologické testovanie stavebných odpadov. Výsledky testov vykazujú, že k najvyššej imobilizácii a to 82,5 % došlo testovaním vodného výluhu vzorky piesku s rôznou zrnitosťou na riase (*Desmodesmus subspicatus*). Záporné hodnoty inhibície boli získané testovaním vyššie uvedených vzoriek 1, 3, 5 a 6 na horčici bielej (*Sinapis alba* L.). Testované odpadné materiály boli ďalej použité pre výrobu predpísaných skúšobných telies, na ktorých boli prevádzané ďalšie skúšky podľa platných noriem [60].

Godinho-Castro a kol. [61] (2012) zverejnili štúdiu, v ktorej skúmali chemické zloženie a ekotoxicitu tehál, obsahujúcich rôzny podiel hliny, cementu a sadrového odpadu s cieľom posúdenia ekologickej vhodnosti použitia odpadov na báze sadry pre výrobu tehál. Testy ekotoxicity ukázali, že vodný výluh tehál je slabo toxický pre perloočku (*Daphnia magna*) (EC20 = 69,0 %) a baktériu (*Vibrio fischeri*) (EC20 = 75,0 %). Naopak vodný výluh vzorky odpadu nebol na úrovni EC20 toxický pre ryby (*Brachydanio rerio*), ani riasy (*Scenedesmus subspicatus*). Podľa výsledkov testovania autori [61] uvádzajú, že prídavok 20 % sadrového odpadu do tehál, môže predstavovať veľmi vhodnú náhradu hmoty v produktoch keramického priemyslu.

Drochytka a Vacenovská sa v štúdii [62] (2012) zaoberali možnosťami nebezpečného odpadu tuhnutia/stabilizácie (S/S) použitím druhotnej suroviny - popolčeka z fluidného

spaľovania. Cieľom bolo preskúmať jeho vlastnosti vrátane posúdenia jeho vplyvu na životné prostredie. Vzorka popolčeka bola upravená rozomletím na častice s veľkosťou < 10 mm a následne bol pripravený vodný výluh podľa normy ČSN EN 12457-4 [43] vrátane úpravy pH na hodnotu $7,8 \pm 0,2$ [62]. Testom akútnej toxicity na *Daphnia magna* Straus bola dosiahnutá len 20% imobilizácia a test na rybe *Poecilia reticulata* vyšiel negatívne po 28 dňoch. V teste akútnej toxicity na sladkovodnej riaske *Desmodesmus subspicatus* bola zistená 25,7% inhibícia rastu a v semichronickom teste na horčici bielej *Sinapis alba* L. bola stanovená 45,4% inhibícia rastu koreňa po 28 dňoch. Testy poskytli podľa autorov neuspokojivé výsledky v podobe nízkych hodnôt ekotoxicity. Vyššia inhibícia rastu bola preukázaná len u horčice (*Sinapis alba* L.), v porovnaní s limitnou hodnotou pre daný testovaný organizmus podľa platnej legislatívy [62].

Perloočky (*Daphnia magna*) použili v testoch ekotoxicity Choi a kol. [63] v práci z roku 2013. Vodné výluhy boli pripravené zo zmesi portlandského cementu (OPC), pucolánových prímiesí, práškoveho popolčeka zo spaľovne (PFA), granulovanej vysokopečnej trosky (GGBS) a GGBS obsahujúcej spraš. Skúška akútnej toxicity vykazovala stopercentnú imobilizáciu *Daphnia magna* pre vodný výluh OPC a PFA. Vodný výluh GGBS obsahujúci spraš vykazoval menšiu toxicitu v závislosti od koncentrácie. Imobilizácia nebola pozorovaná u vodného výluhu s koncentráciou nižšou než 12,5 % GGBS obsahujúceho spraš. Použitie spraše, ako prímiesi do betónu, môže byť užitočné pre zníženie ekotoxicity jeho vodného výluhu. Zároveň táto štúdia poukazuje na význam *Daphnia magna* pre hodnotenie ekotoxicity výluhov z betónu [63], preto bol tento organizmus v rámci diplomovej práce použitý pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka.

4. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

4.1. Vzorková základňa

Testy ekotoxicity boli prevádzané najskôr na štandarde, ktorým bol dichroman draselný, príp. dihydrát chloridu mangánatého pre nitel'nice a na vodných výluhoch nasledovných vzoriek:

- stavebný odpad z opravy trafostanice v Dolných Vítkoviciach, Ostrava, bol odobraný dňa 13.1.2016 v množstve cca 25 kg,
- elektrárenský popolček bol odobraný dňa 30.3.2015 v Dětmaroviciach.

4.2. Použité chemikálie

Medzi použité chemikálie patria:

- k úprave pH vodných výluhov bola použitá kyselina chlorovodíková, p.a., firma Merci, s.r.o. (ČR), o molárnej koncentrácii 1 mol/l, prípadne 1 mol/l NaOH,
- k príprave vodných výluhov vzoriek bola použitá demineralizovaná voda o pH 8,36 pri teplote 23 °C a vodivosti viz tab. 7.

a) Chemikálie použité pri stanovení obsahu kovov metódou AAS boli tieto:

- 65% kyselina dusičná hustoty 1,4 g/cm³, čistota p.a., firma Merci, s.r.o., (5 ml na 1 liter vodného výluhu) k stabilizácii kovov,
- kalibračné roztoky Zn, Cd, Mg, Na o koncentrácii 1,000 ± 0,005 g/l od firmy ANALYTIKA[®] spol. s.r.o.,
- vodný kalibračný roztok Ca o koncentrácii 1,000 ± 0,005 g/l, Český metrologický inštitút.

b) Chemikálie pre semichronický test ekotoxicity na *Lactuca sativa* L. boli tieto:

- dichroman draselný, p.a., firma Merci, s.r.o. (ČR), roztok o koncentracií 1 g/l (štandard),
- riediaci roztok, zloženie viz tab. 4, všetky chemikálie čistoty p.a., Merci Ostrava s.r.o.,

Tab. 4: Zásobné roztoky solí pre testy na semenách *Lactuca sativa* L. [49].

zásobné roztoky	chemikálie	navážky [g/l]
ZR 1	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	117,6
ZR 2	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	49,3
ZR 3	NaHCO_3	25,9
ZR 4	KCl	2,3

Zásobné roztoky na šalát hlávkový boli pripravené podľa jednotlivých navážok uvedených v tab. 4 do jednolitrových odmerných baniek a doplnené po rysku demineralizovanou vodou. Po premiešaní bol zo zásobných roztokov pripravený riediaci roztok na test tak, že z roztokov ZR1 - ZR4 bolo odpipetované vždy 10 ml do dvojlitrovej odmernej banky a po doplnení demineralizovanou vodou po rysku bol dôkladne premiešaný. Riediaci roztok bol použitý v príprave koncentračnej rady roztokov $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka. Roztok bol vždy pripravený minimálne 1 deň vopred z dôvodu ustálenia pH, ktorého hodnota splňovala rozmedzie (7,6 - 8) a nebola tak nutná jeho úprava [49].

c) Chemikálie pre semichronický test ekotoxicity na *Allium cepa* L. boli nasledovné:

- dichroman draselný, p.a., firma Merci, s.r.o. (ČR), roztok o koncentracii 1 g/l (štandard),
- kohútiková voda 3 minúty odpustená pre prípravu koncentračnej rady roztokov $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka.

d) Chemikálie pre akútny test ekotoxicity na nitel'niciach (*Tubifex tubifex*) boli tieto:

- $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, čistota p.a., firma Merci Ostrava s.r.o., koncentrácia 50 mg/l (štandard),
- kohútiková voda 3 minúty odpustená a prevzdušnená pre prípravu koncentračnej rady roztokov $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka.

e) Chemikálie pre akútny test ekotoxicity na perloočkách (*Daphnia magna*) boli tieto:

- dichroman draselný, p.a., firma Merci, s.r.o. (ČR), roztok o koncentracii 1 g/l (štandard),

- riediaci roztok 24 hodín okysličovaný s rovnakým obsahom zásobných roztokov solí ako je uvedené v tab. 4 bol použitý k príprave koncentračnej rady vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka [57].

4.3. Použité materiály

Pre testy semichronickej toxicity boli použité semená šalátu hlávkového od firmy Nohel Garden a.s., Dobříš (ČR), *Lactuca sativa* L., odroda k rýchleniu Safír o veľkosti semien 2 - 3 mm, zakúpené v OBI. Pred zahájením testu boli semená skontrolované a prebrané, čím sa zamedzilo použitie nevhodných semien (napríklad viditeľne poškodených a začiernených semien). Ďalej bola použitá cibuľa kuchynská *Allium cepa* L., odroda Stuttgartska varieta, zakúpená rovnako v OBI (dovozca družstvo Valtice, ČR). Cibule boli bez chemického ošetrenia s priemerom 10 - 15 mm. Nesmeli byť poškodené, suché, začiernené, vyrastené, bez chemického ošetrenia alebo inej úpravy, aby nedošlo k väčšej odolnosti cibule počas testovania.

K testom akútnej toxicity boli použité nitelnice (*Tubifex tubifex*) a perloočky (*Daphnia magna*), ktoré boli zakúpené v akvaristickom obchode Zverimex Macík, Ostrava. Pred použitím boli prepláchnuté čistou kohútikovou vodou, prevzdušnené a ihneď použité k testovaniu. Pre vlastný test boli použité nitelnice približne zhodnej dĺžky. Testované perloočky mladšie než 24 hodín, boli chované v kadičkách o objeme 250 ml, pravidelne kŕmené riasou *Desmodesmus subspicatus*, pričom kultivátor bol osvetľovaný v pravidelných cykloch 16 hodín svetlo, 8 hodín tma pri teplote chovu 20 - 25 °C.

4.4. Použité prístroje a pomôcky

V experimentálnej časti boli použité nasledovné prístroje a pomôcky.

- Vzorka stavebného odpadu bola podrobená mletiu pomocou poloprevádzkového bubnového mlynu - omieľací bubon OM 20 od firmy BRIO Hranice vrátane sita s veľkosťou ok menšou než 1 mm.
- Obsah sušiny bol stanovený sušením vzoriek popolčeka a stavebného odpadu vo váženkách pri (105 ± 5) °C do konštantnej hmotnosti pomocou sušiarne BMT Ecocell štandard, MMM Group (Nemecko) a vážením na analytických váhach od firmy KERN 770 (Nemecko) s presnosťou $\pm 0,1$ mg.
- Vodné výluhy vzoriek boli pretrepávané systémom „hlava-päta“ na trepačke BIOSAN Multi-Shaker PSU 20 (Nemecko).

- Pre filtráciu vodných výluhov bolo použité vákuové filtračné zariadenie Sartorius (ČR) spolu s membránovými ultrafiltrami o priemere pórov 0,60 µm PragoPor, Prachem, Pragochema spol. s r.o.
- Pre meranie pH vodných výluhov vzoriek popolčeka a stavebného odpadu bol použitý multifunkčný prístroj Multi 3420, WTW GmbH & Co.KG (Nemecko) kalibrovaný na štandardné pufry (pH 4,01; 7 a 10) spolu s pH elektródou typu SenTix® 940 v rámci tohto prístroja.
- K meraniu vodivosti, obsahu rozpustených solí a odporu vodných výluhov vzoriek popolčeka a stavebného odpadu bol tiež použitý multifunkčný prístroj Multi 3420, ale s elektródou TetraCon®, WTW GmbH & Co.KG (Nemecko) a kalibračným štandardom bol KCl o molárnej koncentrácii 0,01 mol/l, typ WTW.
- K stanoveniu a vyhodnoteniu textúrnych parametrov bol použitý prístroj SORPTOMATIC série 1990, Thermo Quest (CE Instruments), Rodano (Milano) z Talianska a program ADP (Advanced Data Processing) verzia V4.00 od firmy Porotec, GmbH, Nemecko, verzia 1995 a 2000.
- K stanoveniu kovov (Cd, Zn, Pb, Na, Ca a Mg) vo vodných výluhoch vzoriek bol použitý prístroj AA 280FS, výrobca Varian (Austrália).
- Pre kontaktný test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom boli k naváženiu vzoriek stavebného odpadu a popolčeka pre prípravu koncentračnej rady použité analytické váhy od firmy KERN 770 (Nemecko) s presnosťou ± 0,1 mg.
- Pre kontaktný test na šaláte boli vzorky navážené do vopred označených Petriho misiek o priemere 90 mm a výške 17 mm vrátane filtračného papiera.
- Pre semichronický test toxicity na cibuli boli jednotlivé cibule osadené do sklenených skúmaviek dĺžky 100 mm a priemeru 15 mm.
- Pre niteľnice boli použité plastové jamkové doštičky s (5x6) jamiek.
- Pre perlóčky boli použité kadičky o objeme 100 ml s obsahom rôzne koncentrovaných vodných výluhov vzoriek. K okysličovaniu pred zahájením testu bolo použité akvaristické prebublávadlo. Počas testu neboli vzorky prebublávané.

Pre všetky experimenty boli použité nasledovné prístroje a pomôcky.

- Demineralizovaná voda bola pripravená pomocou Aqual® 25 (ČR) s reverznou osmózou.
- K vyhodnoteniu nameraných dát bol použitý Microsoft Excel 2007.

- Pre zostrojenie lineárnych a sigmoidálnych závislostí bol použitý program Origin 7.5 od firmy OriginLab®.
- Ďalšími použitými pomôckami boli bežné laboratórne sklo (odmerné banky, kadičky, vzorkovnice, atď.), ortuťový teplomer, parafilm, nožnice, filtračný papier, pravítko k odčítaniu dĺžok korienkov, lupa, alobal, kvapátka, atď.

4.5. Príprava vzoriek stavebného odpadu a popolčeka

Pred zahájením ekotoxikologických testov bola vzorka stavebného odpadu o hmotnosti cca 25 kg podrobená mletiu po dobu 24 hodín cez sito s veľkosťou ok menšou než 1 mm. Vzorka bola dôkladne premiešaná, aby sa zaistila jej dokonalá homogenita a následne bola podrobená kvartácii, čím sa získali štyri laboratórne vzorky s hmotnosťou cca 1 kg. Tieto množstvá boli uložené do označených čiernych PE sáčkov tak, aby bol zamedzený prístup vzduchu a skladované na suchom a tmavom mieste pri teplote cca 20 °C.

Vzorka popolčeka bola dôkladne premiešaná, aby sa zabezpečila jej dokonalá homogenita a následne bola uložená do označeného čierneho PE sáčku tak, aby bol zamedzený prístup vzduchu. Vzorka bola skladovaná na suchom a tmavom mieste pri teplote cca 20 °C.

4.5.1. Stanovenie podielu sušiny vzoriek popolčeka a stavebného odpadu

Sušina vzoriek bola stanovená pri teplote $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$ podľa ČSN ISO 11465 [64]. Do označených a vopred zvážených sklenených váženík bolo na analytických váhach navážené dvakrát 1 g vzorky stavebného odpadu a popolčeka s presnosťou na štyri desatinné miesta.

Vzorky boli sušené v sušiarňi pri teplote $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$ 2 hod. a následne po vychladnutí v exsíkátore opäť zvážené na analytických váhach.

Podiel sušiny bol vypočítaný podľa vzorca (3):

$$DR = 100 \cdot (M_D / M_W), \quad (3)$$

kde DR je podiel sušiny [hm. %], M_D je hmotnosť vysušenej analytickej vzorky [kg] a M_W je navážka nevysušenej analytickej vzorky [kg].

Vlhkosť bola vypočítaná podľa vzorca (4):

$$MC = 100 \cdot [(M_W - M_D)/M_D], \quad (4)$$

kde MC je vlhkosť [hm. %].

Pred vylúhovaním vzoriek vodou bolo vypočítané množstvo pridanej vylúhovacej kvapaliny podľa vzorca (5):

$$L = \left(10 - \frac{MC}{100}\right) \cdot M_D, \quad (5)$$

kde L je množstvo pridanej vylúhovacej kvapaliny [l].

4.5.2. Príprava vodného výluhu vzoriek

Vodné výluhy popolčeka a stavebného odpadu boli pripravené v súlade s normou ČSN EN 12457-4 [43]. Do jednotlivých sklenených vzorkovníc o objeme 100 ml bolo na analytických váhach navážené $10 \pm 0,01$ g vysušených vzoriek stavebného odpadu a popolčeka. Doplnením pipetáciou 100 ml demineralizovanej vody bol získaný pomer vody a pevnej fázy (L/S) 10/1. Po uzavretí boli vzorkovnice umiestnené do trepačky, kde sa nechali vylúhovať pri plynulom otáčaní nádoby so vzorkou a demineralizovanou vodou spôsobom „hlava-päta“ rýchlosťou 5 - 10 otáčok za minútu po dobu $(24 \pm 0,5)$ hodín. Vodné výluhy boli filtrované cez vákuové filtračné zariadenie s membránovými ultrafiltrami o priemere pórov $0,60 \mu\text{m}$. Získané výluhy boli prevedené do 100 ml PE fliaš so šrobovacím uzáverom a skladované v chladničke pri teplote $(4 \pm 2) ^\circ\text{C}$ maximálne po dobu 3 dní. Pre každú vzorku boli pripravené dva vodné výluhy, ktoré boli zmiešané a z nich boli pipetované potrebné objemy k nasledovným analýzam a ekotoxikologickým testom.

4.5.3. Stanovenie pH a konduktivity vodných výluhov vzoriek

Stanovenie pH vodných výluhov vzoriek

Pred samotným meraním pH vodných výluhov vzoriek, bola prevedená kontrola správnosti pH elektródy na štandard o $\text{pH} = 10,00$ pri $25 ^\circ\text{C}$. Hodnota pH štandardu po zmeraní vyšla $10,05$ pri $24,2 ^\circ\text{C}$, preto sa pristúpilo meraniu a úprave pH vodných výluhov vzoriek. Medzi meraniami bola pH elektróda vždy opláchnutá demineralizovanou vodou a dôkladne osušená. Po zmeraní pH jednotlivých vodných výluhov, bola úprava pH realizovaná pridávaním kyseliny chlorovodíkovej o koncentrácii 1 mol/l pomocou plastového kvapátka dovtedy, kým hodnota pH výluhov nespádala do rozsahu hodnôt cca 7 - 8.

Stanovenie konduktivity, odporu, salinity a obsahu rozpustných solí

Stanovenie konduktivity, odporu, salinity a obsahu rozpustných solí bolo prevádzané v rovnakých výluhoch vzoriek ako v prípade stanovenia pH pomocou multifunkčného prístroja s vodivostnou elektródou. Medzi jednotlivými meraniami bola vodivostná elektróda vždy opláchnutá demineralizovanou vodou a dôkladne osušená. Najskôr bola prevedená kontrola správnosti merania vodivostnej elektródy meraním vodivosti štandardu, ktorým bol 0,01 mol/l KCl. Hodnota vodivosti štandardu predstavovala 1419 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pri 24,5 °C (prepočítaná prístrojom z jednobodovej rekalibrácie), konštanta elektródy $k_E = 0,473 \text{ cm}^{-1}$. Keďže hodnota vodivosti štandardu mala byť $G = 1413 \mu\text{S}/\text{cm}$ pri teplote 25 °C a konštanta elektródy 0,475 cm^{-1} , bolo tak overené, že vodivostná elektróda merala správne. Následne bola zmeraná vodivosť a ďalšie parametre demineralizovanej vody, teda kontrolného stanovenia. Výsledky merania kontrolného stanovenia sú uvedené v tab. 7. Nakoniec bola zmeraná vodivosť a ďalšie vyššie uvedené parametre vo vodných výluhoch stavebného odpadu a popolčeka.

4.6. Test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom

Semichronický test toxicity na šaláte hlávkovom *Lactuca sativa* L. bol prevádzaný podľa normy ISO 17126 [49] najskôr na rade rôzne koncentrovaných roztokov štandardu, ktorým bol $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, po dobu 72 hod. a následne na koncentračnej rade vodného výluhu popolčeka po dobu 96 hod. pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Obe vzorky boli podrobené i kontaktnému testu semichronickej toxicity na *Lactuca sativa* L. za 96 hodín. Výsledkom testov bolo zistenie hodnoty 96hIC50.

4.6.1. Test semichronickej toxicity na šaláte pre $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Štandard $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ bol použitý k príprave štandardných roztokov o koncentráciách 0; 5; 10; 20; 30; 40; 60; 80; 100; 160; 320 a 400 mg/l pripravených do 50 ml odmerných baniek, doplnených po rysku riediacim roztokom o zložení uvedenom v tab. 4. Takto pripravená koncentračná rada roztokov $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ bola použitá pre test semichronickej toxicity tak, že pre každú koncentráciu, vrátane kontroly, boli pripravené tri vopred označené Petriho misky vrátane filtračného papiera, do ktorých bolo odpipetované vždy 2,5 ml riediaceho roztoku o zložení uvedenom v tab. 4. Do každej Petriho misky bolo rovnomerne nasadených 20 ks semien šalátu. Petriho misky boli umiestnené na suché a tmavé miesto na dobu 72 hod. pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Po uplynutí 72 hodín, boli odčítané dĺžky všetkých korieňkov šalátu

v mm pomocou pravítka, z ktorých bol vypočítaný aritmetický priemer dĺžky korienkov pre jednotlivé koncentrácie. Z priemerných dĺžok korienkov semien šalátu bola podľa vzťahu (2) vypočítaná inhibícia rastu korienkov semien v percentách v programe Microsoft Excel 2007. V programe Origin 7.5 bola zostrojená grafická závislosť inhibície rastu korienkov na logaritme koncentrácie roztokov $K_2Cr_2O_7$. Zistené hodnoty sú v súlade s normou [49].

4.6.2. Test semichronickej toxicity na šaláte pre vodné výluhy popolčeka a stavebného odpadu

Z vodného výluhu popolčeka pripraveného podľa normy ČSN EN 12457-4 [43] bola pripravená rada roztokov o koncentráciách 0; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200; 500 ml/l do odmerných baniek o objeme 20 až 100 ml, ktoré boli doplnené po rysku riediacim roztokom o zložení viz tab. 4. Koncentračná rada bola použitá najskôr k orientačnému testu. Do označených Petriho misiek s filtračným papierom bolo napipetované vždy 2,5 ml roztoku o príslušnej koncentrácii a následne nasadené 20 ks semienok šalátu. Petriho misky boli umiestnené na suché a tmavé miesto s teplotou $(24 \pm 2) ^\circ C$. Test prebiehal 96 hod. a po ukončení testu bola po výpočte inhibícií rastu korienkov šalátu podľa vzťahu (2) v programe Origin 7.5 zostrojená jej sigmoidálna závislosť na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka. Preukázalo sa, že došlo k stimulácii korienkov šalátu, viz príloha 2, preto bol použitý kontaktný test.

Ďalej bol prevedený orientačný semichronický kontaktný test na *Lactuca sativa* L., navážením príslušných hmotností stavebného odpadu na analytických váhach s presnosťou $\pm 0,1$ mg priamo do pripravených Petriho misiek s filtračným papierom. Do každej Petriho misky bolo pridané 2,5 ml riediaceho roztoku so zložením uvedeným v tab. 4 a rovnomerne nasadené 20 ks semien šalátu. Orientačným testom bol zistený koncentračný rozsah výluhu popolčeka, pre ktorý bolo možné určiť IC_{50} za 96 hodín zo sigmoidálnej závislosti inhibície rastu korienkov šalátu na logaritme koncentrácie popolčeka.

Základný kontaktný test bol zahájený navážením príslušných hmotností popolčeka na analytických váhach s presnosťou $\pm 0,1$ mg priamo do pripravených Petriho misiek s filtračným papierom. Do každej Petriho misiky bolo pridané 3,0 ml riediaceho roztoku o zložení viz tab. 4. Získaná bola tak koncentračná rada 0; 17,1; 23,5; 34,7; 67,5; 100,5; 134,3; 167,6; 234,4; 334,2 a 1000,7 g/l. Test bol prevedený v troch stanoveniach paralelne, čiže na každú koncentráciu bolo rovnomerne nasadené 3x po 20 ks semien šalátu. Petriho misky boli umiestnené na suché a tmavé miesto s teplotou $(24 \pm 2) ^\circ C$ na dobu 96 hodín. Po

96 hod. boli všetky korienky semien šalátu zmerané pomocou pravítka a po výpočte aritmetického priemeru dĺžok korienkov v programe Microsoft Excel 2007 bola podľa vzťahu (2) vypočítaná inhibícia rastu korienkov semien v percentách. V programe Origin 7.5 bola zostrojená sigmoida závislosti inhibície rastu korienkov semien šalátu na logaritme koncentrácie popolčeka, z ktorej bola zistená hodnota 96hIC₅₀. Na obr. 7 je uvedený základný kontaktný test semichronickej toxicity na *Lactuca sativa* L. pre vzorku popolčeka o koncentráciách 334,20 a 1000,68 g/l za 96 hod a pri teplote (24 ± 2) °C.

Orientačný semichronický kontaktný test na *Lactuca sativa* L. pre vzorku stavebného odpadu bol prevedený rovnakým postupom ako orientačný kontaktný test semichronickej toxicity na *Lactuca sativa* L. pre popolček. Výsledkom bolo zistenie koncentračného rozsahu, pre ktorý bolo možné určiť IC₅₀ za 96 hodín. Nasledoval základný test navážením príslušných hmotností stavebného odpadu na analytických váhach s presnosťou ± 0,1 mg priamo do pripravených Petriho misiek s filtračným papierom. K jednotlivým navážkam stavebného odpadu boli pridané 4,0 ml riediaceho roztoku o zložení viz tab. 4. Získaná bola tak koncentračná rada 0; 12,7; 17,7; 25,9; 50,9; 75,6; 125,3; 175,6; 250,5; 750,6; 1251,3 g/l. Pre každú koncentráciu bolo rovnomerne nasadených 3x 20 ks semienok šalátu. Petriho misky boli uložené na suchom a tmavom mieste na 96 hod. pri teplote (24 ± 2) °C. Po ukončení testu, boli všetky korienky zmerané a v programe Microsoft Excel 2007 boli vypočítané inhibície rastu korienkov šalátu rovnakým spôsobom ako u základného kontaktného semichronického testu na *Lactuca sativa* L. pre popolček. Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov semien šalátu na logaritme koncentrácie stavebného odpadu vrátane určenia IC₅₀ za 96 hod., bola vytvorená v programe Origin 7.5.



Obr. 7: Základný kontaktný test semichronickej toxicity na *Lactuca sativa* L. pre vzorku popolčeka o koncentráciách 334,20 a 1000,68 g/l za 96 hod. pri teplote (24 ± 2) °C [foto autorka].

4.7. Test semichronickej toxicity na cibuli kuchynskej

Cibuľa kuchynská bola použitá v 72 hodinovom teste semichronickej toxicity najskôr pre koncentračnú radu roztokov štandardu, teda $K_2Cr_2O_7$ a potom pre rôzne koncentrované roztoky vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka. Z dĺžok korienkov cibuliek bola vypočítaná inhibícia rastu korienkov a následne bola určená hodnota IC_{50} za 72 hodín.

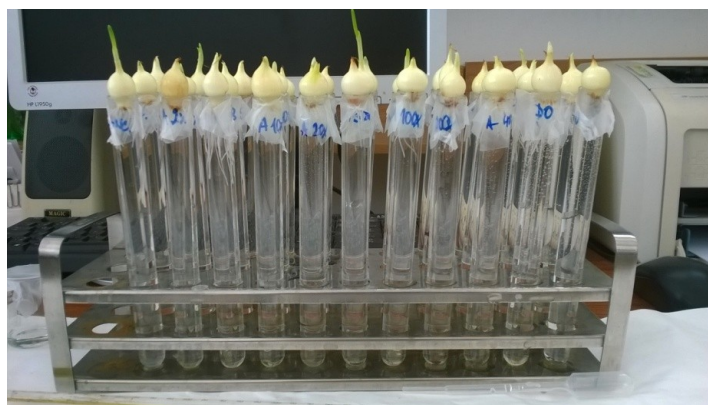
4.7.1. Test semichronickej toxicity na cibuli pre $K_2Cr_2O_7$

Po zakúpení boli cibuľky dôkladne prebraté so zámerom odstránenia vyschnutých, viditeľne poškodených cibuliek. Pred každým testom bol olúpaný potrebný počet cibuliek tak, aby nedošlo k poškodeniu koreňového primordia. Olúpané cibuľky približnej rovnakej veľkosti sa nechali na 6 - 8 hodín kultivovať v studenej vodovodnej vode, ktorá bola pravidelne menená.

Pred samotným testom bola pripravená rada roztokov $K_2Cr_2O_7$ o koncentráciách 0; 5; 10; 20; 30; 40; 60; 80; 100; 160; 320 a 400 mg/l, ktoré boli pripravené do 50 ml odmerných baniek, doplnených po rysku 3 minúty odpustenou studenou vodovodnou vodou podľa odporúčaného postupu [65]. Označené sklenené skúmavky s dĺžkou 100 mm a priemerom 15 mm boli naplnené štandardnými roztokmi až po okraj a zakryté parafilmom. Jednotlivé cibuľky boli na 24 hod. ponorené vo vodovodnej vode pre aktiváciu koreňového primordia. Na vrchnú časť každej skúmavky boli po vytvorení otvoru v parafilme nasadené olúpané cibuľky tak, aby ich koreňové primordium bolo dostatočne ponorené v príslušnom roztoku. Pre každú koncentráciu boli nasadené 3 cibuľky po dobu 72 hod. a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ C$. Stojan so skúmavkami bol položený na miesto, ktoré zabezpečovalo striedanie dňa a noci bez pôsobenia priameho slnečného žiarenia a každých 24 hod. boli skúmavky doplňované štandardnými roztokmi z dôvodu odparovania a využitia roztokov k zavlažovaniu cibuliek. Po 72 hod. boli zmerané dĺžky korienkov cibuliek tak, že najkratší a najdlhší korienok bol vylúčený a pomocou pravítka bolo zmeraných 5 - 7 korienkov priemernej dĺžky v súlade s odporúčaným postupom [65]. Po výpočte aritmetického priemeru dĺžok korienkov pre každú koncentráciu štandardného roztoku bola v programe Microsoft Excel 2007 vypočítaná inhibícia rastu korienkov cibule v percentách. Z grafu sigmoidálnej závislosti inhibície rastu korienkov na logaritme koncentrácie vytvoreného v programe Origin 7.5 bola zistená hodnota $72hIC_{50}$.

4.7.2. Test semichronickej toxicity na cibuli pre vodné výluhy popolčeka a stavebného odpadu

Do odmerných baniek s objemami 20 - 100 ml boli pripravené roztoky vodného výluhu popolčeka o koncentráciách 0; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200 a 500 ml/l, ktoré boli použité pre orientačný test. Po zistení koncentračného rozsahu, pre ktorý bolo možné určiť hodnotu 72hIC₅₀, bola pripravená koncentračná rada vodného výluhu popolčeka s koncentraciami 0; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200; 500 a 1000 ml/l pre základný test. Odmerné banky boli doplnené po rysku 3 minúty odpustenou studenou vodovodnou vodou [65]. Ďalej test pokračoval rovnakým spôsobom ako je uvedené vyššie, ale na každú koncentráciu boli nasadené 3 cibulky, čiže prebiehal v troch paralelných stanoveniach 72 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Tiež postup testu na cibuli pre vodný výluh stavebného odpadu sa zhoduje s vyššie uvedeným postupom, pričom základný test prebiehal v troch stanoveniach paralelne pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ po dobu 72 hodín, viz obr. 8.



Obr. 8: Základný test semichronickej toxicity na *Allium cepa* L. pre vodný výluh stavebného odpadu o rozsahu koncentrácií 2,5 - 1000 ml/l vrátane kontroly po 72 hod. pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ [foto autorka].

4.8. Test akútnej toxicity na nitel'niciach

Nitel'nice boli použité v teste akútnej toxicity najskôr pre štandard, ktorým bol dihydrát chloridu manganatého. Akútna toxicita bola ďalej zisťovaná v koncentračných radoch vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka.

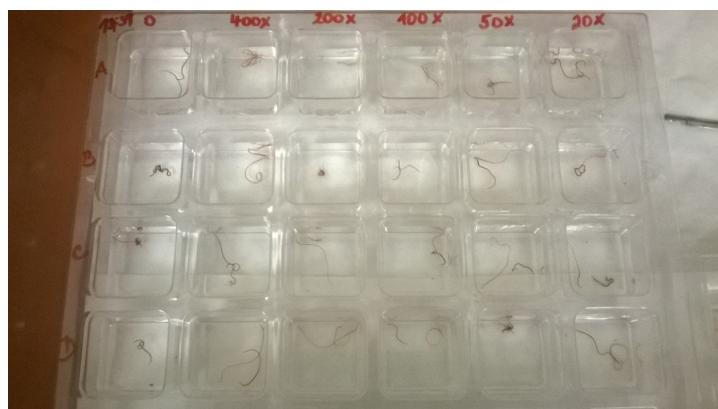
4.8.1. Test akútnej toxicity na nitel'niciach pre $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Po zakúpení boli nitel'nice opláchnuté studenou vodovodnou vodou a do zahájenia testov ponechané v okysličenej vode, viz obr. 10. Vzhľadom na nároky nitel'nic pre okolité prostredie boli podrobené testom v deň ich zakúpenia.

Roztok chloridu manganatého o koncentrácii Mn^{2+} 10 mg/l bol nariadený pre prípravu koncentračnej rady o koncentráciách Mn^{2+} : 0; 0,05; 0,1; 0,5; 0,7; 1; 1,2 a 1,5 mg/l do odmerných baniek s objemom 50 ml, ktoré boli doplnené po rysku studenou vodovodnou vodou. Do označených jamiek plastovej doštičky bolo napipetované nastaviteľnou pipetou vždy 5 ml príslušného roztoku. Do každej zo štyroch jamiek pre 1 koncentráciu bola vložená 1 nitel'nica približnej rovnakej dĺžky. Po troch minútach od začiatku testu boli pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ spočítané nitel'nice, ktoré uhynuli. Štandardný test na nitel'niciach trvá 3 minúty [66]. Avšak po 3 min. nedošlo k mortalite žiadnej z nitel'níc a všetky jedince boli naďalej živé bez obmedzenia pohyblivosti. Nitel'nice boli preto pozorované ďalších šesť hodín v časových intervaloch 10, 20 a 30 min. a tiež každú hodinu počas celej doby testovania.

4.8.2. Test akútnej toxicity na nitel'niciach pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka

Koncentračná rada vodného výluhu stavebného odpadu bola pripravená do odmerných baniek s objemami 25 - 100 ml, do ktorých bol napipetovaný príslušný objem výluhu tak, aby boli získané roztoky o koncentráciách 0; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200 a 500 ml/l. Odmerné banky boli doplnené po rysku studenou vodovodnou vodou. Z každého roztoku bolo nastaviteľnou pipetou odpipetované 4x po 5 ml do každej označenej jamky plastovej doštičky. Do jednotlivých jamiek boli rozmiestnené vždy dve približne rovnako dlhé nitel'nice, pričom na každú koncentráciu pripadalo 8 jedincov, viz obr. 9 Po uplynutí troch minút od začiatku testu neboli spočítané mŕtve nitel'nice, keďže všetky jedince prežili a test prebiehal ďalej. V časových intervaloch 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 21; 24; 48; 72 hod. a ďalej 5; 6; 9; 12 a 13 dní boli nitel'nice pozorované a spočítané jedince, ktoré neprežili, viz príloha 11.



Obr. 9: Test akútnej toxicity na *Tubifex tubifex* po 3 hodinách od začiatku testu pre vodný výluh stavebného odpadu pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ [foto autorka].

Pre akútny test toxicity na nitel'niciach bol postup riedenia vodného výluhu popolčeka a prípravy nitel'nic totožný s predchádzajúcim testom pre výluh stavebného odpadu. Na každú koncentráciu pripadalo 8 nitel'nic. Po 3 minútach od začiatku testu všetky nitel'nice prežili, preto boli pozorované naďalej v časových intervaloch 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 24; 48 hod. a ďalej 7; 8 a 9 dní a spočítané jedince, ktoré neprežili, viz príloha 13.



Obr. 10: Nitel'nice v okysličenej vodovodnej vode pred zahájením testu pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ [foto autorka].

4.9. Test akútnej toxicity na perloočkách

Test akútnej toxicity na *Daphnia magna*, bol prevedený v súlade s normou ČSN EN ISO 6341 [57]. Pre test boli použité jedince mladšie než 24 hodín, ktoré boli pravidelne kŕmené zelenou riasou *Desmodesmus subspicatus*. Kultivátor bol osvetľovaný v pravidelných cykloch 16 hod. svetlo, 8 hod. tma pri teplote chovu $20 - 25 ^\circ\text{C}$. Test bol založený na sledovaní imobilizácie perloočiek v rôzne koncentrovaných roztokoch vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka po 24 a 48 hod. Správnosť prevedenia testu bola overená testom pre štandard, ktorým bol $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ po 24 a 48 hodinovej expozícii.

4.9.1. Test akútnej toxicity na perloočkách pre $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Do 100 ml odmerných baniek boli napipetované príslušné objemy $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ o koncentrácii 1 g/l a doplnené po rysku 24 hod. vopred okysličovaným riediacim roztokom o zložení, viz tab. 4. Označené 150 ml kadičky boli naplnené po 50 ml roztokov $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a ako kontrola bola použitá okysličená riediacia voda. Do každej kadičky bolo umiestnených vždy 10 jedincov. Test prebiehal v troch paralelných stanoveniach pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ v časových intervaloch 24 a 48 hodín. Zo zisteného počtu mŕtvych jedincov bola v programe Microsoft Excel 2007 vypočítaná priemerná mortalita v percentách. V programe Origin 7.5

bola zostrojená grafická závislosť imobilizácie perloočiek na logaritme koncentrácie roztokov $K_2Cr_2O_7$, čím bola overená správnosť tohto testu.

4.9.2. Test akútnej toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka

Do 100 ml odmerných baniek boli nariadením vodného výluhu stavebného odpadu pripravené roztoky o koncentráciách 0; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200 a 500 ml/l, ktoré boli doplnené po rysku 24 hod. vopred okysličeným riediacim roztokom o zložení, viz tab. 4. Označené 150 ml kadičky boli naplnené 50 ml roztoku o príslušnej koncentrácii a ako kontrola bola použitá okysličená riediaci voda. Perloočky boli vnesené v počte 10 jedincov, teda maximálny počet na 50 ml roztoku v každej kadičke, pričom test prebiehal v dvoch paralelných stanoveniach pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ C$ v časových intervaloch 24 a 48 hodín. Po ukončení testu bola v programe Microsoft Excel 2007 vypočítaná priemerná úmrtnosť perloočiek v percentách a v programe Origin 7.5 bol vytvorený grafy závislosti priemernej imobilizácie na logaritme koncentrácie roztokov vodného výluhu stavebného odpadu po 24 a 48 hodinách.

Vodný výluh popolčeka bol použitý pre prípravu koncentračnej rady odpipetovaním príslušného objemu do 100 ml odmerných baniek, čím boli získané roztoky o koncentráciách 0; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200 a 500 ml/l. Ďalej bol test prevádzaný rovnakým postupom ako je uvedené vyššie pre vodný výluh stavebného odpadu.

5. VÝSLEDKY A DISKUSIA

5.1. Výsledky stanovenia podielu sušiny, vlhkosti a množstva vylúhovacej kvapaliny

V nasledovnej kapitole sú uvedené výsledky stanovenia sušiny, vlhkosti a množstva vylúhovacej kvapaliny uvedené v tabuľke 5. Vo vodných výluhoch boli stanovené hodnoty pH pred a po úprave HCl s koncentráciou 1 mol/l, viz tab. 6 a tiež vodivosť, ktorá je vrátane ďalších parametrov uvedená v tab. 7. Výsledky XRFS analýzy, stanovenia obsahu vybraných prvkov vo vodných výluhoch vzoriek metódou AAS a stanovenia niektorých textúrnych parametrov sú uvedené v tab. 8 - 11.

Tab. 5: Výsledky stanovenia podielu sušiny, vlhkosti a množstva vylúhovacej kvapaliny vzoriek.

vzorka	M_W [kg]	M_D [kg]	DR [hm.%]	MC [hm.%]	L [l]
stavebný odpad	$1,0269 \cdot 10^{-3}$	$1,0273 \cdot 10^{-3}$	99,9703	$3,01 \cdot 10^{-2}$	$9,9996 \cdot 10^{-2}$
popolček	$1,0537 \cdot 10^{-3}$	$1,5022 \cdot 10^{-3}$	99,9940	$6,00 \cdot 10^{-3}$	$9,9999 \cdot 10^{-2}$

Pozn.:

M_D - priemerná hmotnosť vysušenej analytickej vzorky [kg],

M_W - priemerná hmotnosť nevysušenej analytickej vzorky [kg],

DR - podiel sušiny [hm. %],

MC - vlhkosť [hm. %],

L - množstvo pridanej vylúhovacej kvapaliny [l].

Najvyšší obsah sušiny je u vzorky popolčeka, pričom vzorka stavebného odpadu má obsah sušiny o 0,0237 % nižší. Možno konštatovať, že z hľadiska obsahu sušiny sú obe vzorky skoro zrovnateľné.

Porovnaním hodnôt vlhkosti vzoriek staveného odpadu a popolčeka, má vyššiu vlhkosť vzorka stavebného odpadu. Hodnota vlhkosti u oboch vzoriek sa líši o 0,0241 %, preto sú vzorky z hľadiska obsahu vlhkosti opäť zrovnateľné.

V súvislosti s množstvom pridanej vylúhovacej kvapaliny, sa vzorky líšia len o $3 \cdot 10^{-5}$ l, preto pre prípravu vodného výluhu jednotlivých vzoriek bol použitý rovnaký objem vylúhovacej kvapaliny t.j. demineralizovanej vody a to 100 ml, aby bol pomer L/S = 10/1.

5.2. Výsledky stanovenia pH, vodivosti, odporu, salinity a obsahu rozpustených solí

Vo vodných výluhoch boli podľa postupu uvedeného v podkapitole 4.5.3. stanovené hodnoty pH, viz tab. 6. Pomocou vodivostnej elektródy bola stanovená i vodivosť vodných výluhov a ďalšie parametre uvedené v tab. 7.

Tab. 6: Namerané hodnoty pH vodných výluhov vzoriek.

vzorka	t [°C]	pH ₁	pH ₂	V _{HCl} [ml]
stavebný odpad	24	12,23	8,20	1,2
popolček	24,2	12,61	7,47	1,1

Pozn.:

t - teplota merania [°C],

pH₁ - pôvodná hodnota pH,

pH₂ - hodnota pH po úprave vodných výluhov vzoriek na ekotoxikologické testy,

V_{HCl} - pridaný objem 1 mol/l HCl pre úpravu pH vodných výluhov vzoriek [ml].

Pôvodné hodnoty pH vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka o objeme 100 ml sú približne zrovnateľné, viz tab. 6. Vyššiu hodnotu pH má vodný výluh popolčeka a to o 0,38 v porovnaní s pH výluhu stavebného odpadu.

Tab. 7: Namerané hodnoty vodivosti a ďalších parametrov vodných výluhov vzoriek.

vzorka	t [°C]	χ [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	ρ [$\Omega.\text{cm}$]	TDS [g/l]	Sal
stavebný odpad	24,1	901	1111	0,90	0,4
popolček	24,2	2270	440	2,27	1,1
demineralizovaná voda	24,1	1,5	664	1.10^{-3}	0

Pozn.:

t - teplota merania [°C],

χ - konduktivita [$\mu\text{S}/\text{cm}$],

ρ - špecifický odpor [$\Omega.\text{cm}$],

Sal - salinita,

TDS - suma všetkých iónov [g/l].

Najvyššiu stanovenú hodnotu vodivosti má vodný výluh popolčeka a to o viac než 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ oproti vodnému výluhu stavebného odpadu. Naopak nameraná hodnota špecifického odporu je vyššia vo výluhu stavebného odpadu. Najvyšší obsah rozpustných solí i hodnota salinity je vo vodnom výluhu elektrárenského popolčeka, viz tab. 7.

5.3. Vybrané inštrumentálne analýzy

5.3.1. Stanovenie obsahu prvkov a zlúčenín vo vzorkách metódou XRFS

Vzorka elektrárenského popolčeka bola po sušení pri teplote (105 ± 5) °C podľa ČSN ISO 11465 [64] podrobená XRFS analýze. Strata sušením predstavovala 0,17 %. Meranie bolo prevádzané na módy pôdy a minerály, konkrétne rudy Cu/Zn.

Tab. 8: Obsahy stanovených prvkov a zlúčenín vo vzorke popolčeka metódou XRFS.

prvok	[hm. %]	zlúčenina	[hm. %]
Al	19,48	Al_2O_3	36,81
K	2,68	K_2O	3,24
Ca	3,12	CaO	4,36
Si	25,88	SiO_2	55,39
Fe	5,47	Fe_2O_3	7,82
S	0,37	SO_3	0,93
Ba	37,16	BaO	41,49
Mg	0,52		
Ti	0,64	-	
Mn	0,11	-	

Z výsledkov XRFS analýzy, viz tab. 8, je zrejmé, že najviac obsiahnutý je vo vzorke popolčeka SiO_2 . Vysoký je i obsah BaO a Al_2O_3 . Naopak najnižší obsah spomedzi prítomných oxidov má SO_3 .

Tab. 9: Obsah zlúčenín vo vzorke stavebného odpadu z XRFS analýzy.

prvok	[hm. %]	zlúčenina	[hm. %]
Al	2,850	Al_2O_3	5,38
Ca	5,980	CaO	8,37
Mn	0,062	MnO	0,08
Ti	0,198	TiO_2	0,33
Ba	0,546	Cr_2O_3	0,07
Co	0,036	Fe_2O_3	3,48
Cu	0,030	K_2O	1,32
Ni	0,023	Na_2O	0,64
Pb	0,045	MgO	0,78
Rb	0,051	P_2O_5	0,05
Sr	0,111	SiO_2	71,52
Zn	0,158	SO_3	0,93

Z obsahov stanovených oxidov v tab. 9 možno skonštatovať, že vo vzorke stavebného odpadu je najviac zastúpený SiO_2 . Naopak P_2O_5 , Cr_2O_3 a MnO sú z prítomných oxidov v stavebnom odpade najmenej zastúpené. Ako uvádza tab. 9., jednotlivé prvky sú vo vzorke stavebného odpadu prítomné vo veľmi nízkych koncentráciách.

5.3.2. Stanovenie obsahu vybraných prvkov metódou AAS

Pre stanovenie obsahu kovov boli použité vodné výluhy stavebného odpadu a popolčeka každý o objeme 100 ml, ktoré boli zakonzervované pridaním 0,5 ml koncentrovanej kyseliny dusičnej. V pripravených výluhoch vzoriek boli metódou atómovej absorpčnej spektrometrie stanovené obsahy kovov Mg, Ca, Cd, Pb, Zn a Na.

Tab. 10: Obsahy stanovených prvkov vo vodných výluhoch vzoriek metódou AAS.

vzorka	Ca	Mg	Cd	Pb	Na	Zn
	[mg/l]					
stavebný odpad	135,0	0,037	0,003	0,113	0,063	0,130
popolček	493,0	0,057	0,017	0,278	9,276	0,089

Pozn.:

Mg - nameraná hodnota vo výluhu stavebného odpadu je pod medzou stanoviteľnosti < 0,05,

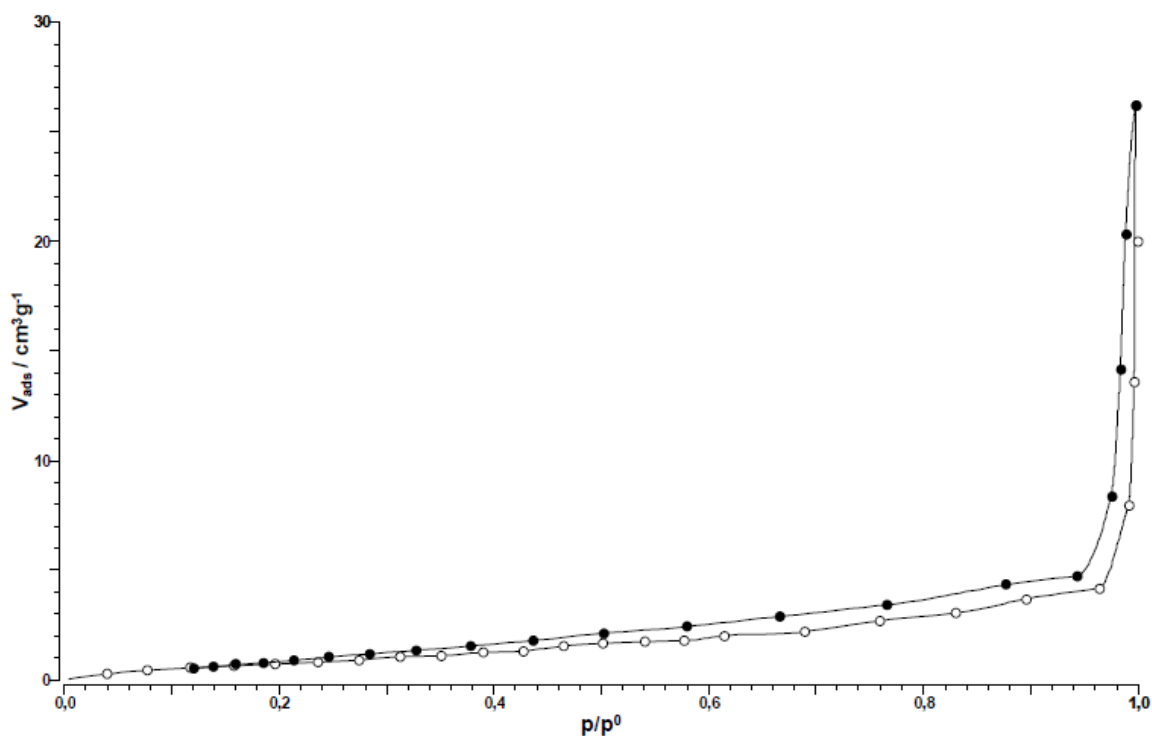
Cd - namerané hodnoty sú pod medzou stanoviteľnosti < 0,05,

Pb - nameraná hodnota je pod medzou stanoviteľnosti < 5.

Vo vodných výluhoch stavebného odpadu i popolčeka je najvyšší obsah Ca, ktorý je však 4x vyšší vo výluhu popolčeka, viz tab. 10. Avšak namerané obsahy Mg, Cd a Pb sú pod medzou stanoviteľnosti.

5.4. Vyhodnotenie textúrnych parametrov vzoriek stavebného odpadu a popolčeka

Meranie textúrnych parametrov prebiehalo metódou nízкотеплотnej adsorpcie N_2 pri jeho teplote varu 77,7 K z vákuua do atmosférického tlaku vrátane premerania adsorpčne-desorpčných izoteriem, viz obr. 11. Metoda BET [67] bola použitá k stanoveniu špecifického povrchu oboch vzoriek. Metódou Horvath-Kawazoe [68] bol určený objem mikropórov pre obe vzorky. Metódou BJH [69] bol pre obe vzorky stanovený objem mezopórov podľa modelu de Boera.



Obr. 11: Adsorpčno-desorpčná izoterma vzorky popolčeka.

Tab. 11: Výsledky textúrnej analýzy pre vzorky stavebného odpadu a popolčeka.

	stavebný odpad	popolček
SSA [m ² /g]	6,21	3,52
V _{MI} [nm]	0,0016	0,0005
V _{ME} [nm]	0,0208	0,0098

Pozn.:

SSA - merný špecifický povrch [m²/g],

V_{MI} - kumulatívny objem mikropórov [ml/g],

V_{ME} - kumulatívny objem mezopórov [ml/g].

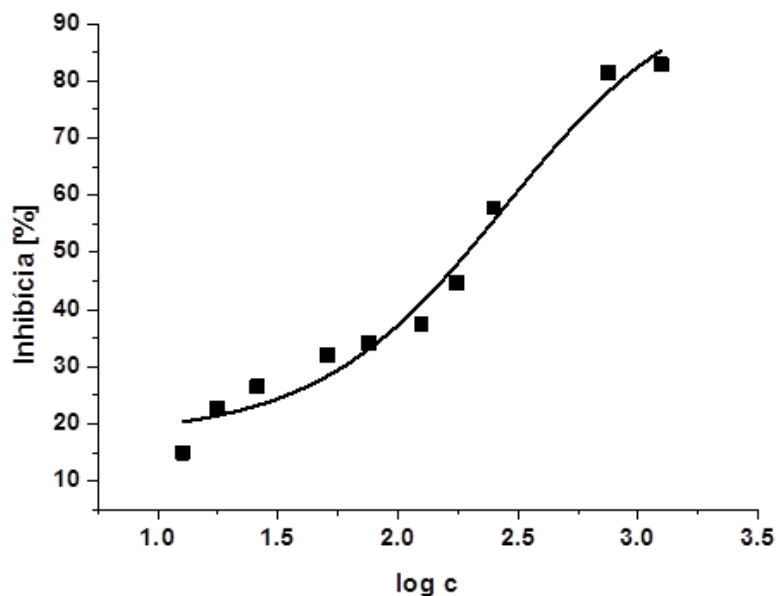
Stanovené textúrne parametre sú pre porovnanie uvedené v tab. 11. Lepšie adsorpčné schopnosti má vzorka stavebného odpadu, pretože má vyšší merný špecifický povrch. Vzorky majú veľmi slabý mezoporézny charakter, pretože kumulatívny objem mezopórov je u oboch vyšší oproti kumulatívneho objemu mikropórov.

5.5. Kontaktný test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom pre vzorku stavebného odpadu a popolčeka

Test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom bol najskôr prevedený pre vodný výluh popolčeka. Vzhľadom k tomu, že vodný výluh popolčeka pôsobil po dobu 96 hod. na rast korienkov šalátu stimulačne, viz príloha 1, nebolo možné zo sigmoidálnej závislosti inhibície rastu koreňa šalátu na logaritme koncentrácie výluhu popolčeka určiť hodnotu 96hIC₅₀. Pokračovalo sa preto prevedením kontaktných testov semichronickej toxicity na šaláte pre stavebný odpad a popolček. Správnosť prevedenia testu bola posúdená podľa testovania pre štandardnú látku, ktorou bol K₂Cr₂O₇ po dobu 72 hodín. Výsledkom testu bolo určenie hodnoty 72hIC₅₀, ktorá predstavovala 37,30 ± 1,22 mg/l a je v súlade s normou ISO 17126 [49].

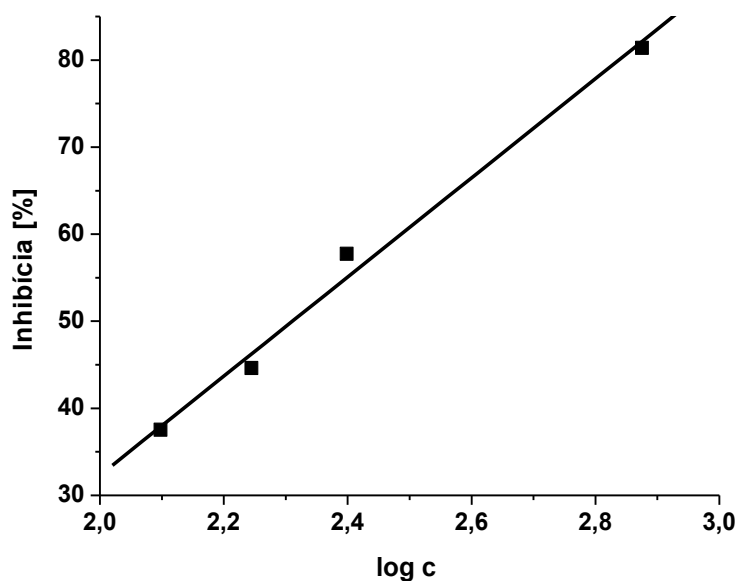
5.5.1. Kontaktný test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom pre vzorku stavebného odpadu

Zo sigmoidálnej závislosti inhibície rastu koreňa šalátu na logaritme koncentrácie roztokov vzorky stavebného odpadu, viz graf 1, boli určené hodnoty IC₂₀, IC₅₀ a IC₈₀ za 96 hodín. Z vybraných bodov lineárnej časti sigmoidy bola zostrojená priamková závislosť inhibície rastu koreňa šalátu na logaritme koncentrácie stavebného odpadu, viz graf 2. Z rovnice priamky boli pre porovnanie vypočítané hodnoty IC₅₀ a IC₈₀ za 96 hodín.



Graf 1: Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov *Lactuca sativa* L. v % na logaritme koncentrácie stavebného odpadu po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.

Dĺžky korienkov jednotlivých semien šalátu, ktoré boli použité pre výpočet inhibície ich rastu v teste semichronickej toxicity pre vzorku stavebného odpadu po 96 hod. sú uvedené prílohe 3. Pri vytváraní grafov 1 a 2 sa vychádzalo z experimentálnych dát uvedených v prílohe 4.



Graf 2: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov *Lactuca sativa* L. v % na logaritme koncentrácie stavebného odpadu po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.

Tab. 12: Vyhodnotenie kontaktného testu semichronickej toxicity na *Lactuca sativa* L. pre vzorku stavebného odpadu za 96 hod. zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti.

hodnota	sigmoidálna závislosť [g/l]	lineárna závislosť
IC20	80,35	-
IC50	278,61 ± 1,53	204,47
IC80	965,92	687,93
R	0,9896	0,9952

Pozn.:

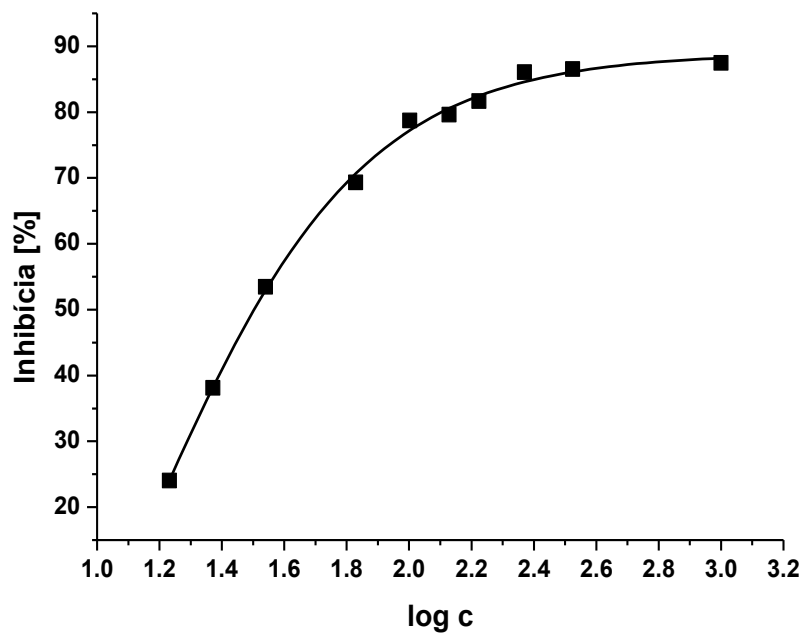
R - koeficient korelácie.

Teplota počas testovania bola (24 ± 2) °C.

Hodnoty inhibičných koncentrácií, ktoré boli určené zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti sú pre porovnanie uvedené v tab. 12. Spomedzi uvedených inhibičných koncentrácií je najvýznamnejšia hodnota IC50, keďže vyjadruje koncentráciu spôsobujúcu 50% inhibíciu rastu koreňkov šalátu. Koncentrácie IC80 sa líšia z dôvodu iného priebehu kriviek (priamka a sigmoida). Závislosť inhibície rastu koreňkov na logaritme koncentračnej rady výluhu odpadu vykazuje sigmoidálny priebeh. Výberom bodov z lineárnej časti sigmoidy bola pre porovnanie vytvorená presnejšia lineárna závislosť s vyššou hodnotou korelačného koeficientu vďaka tomu, že bola zostrojená len z niekoľkých bodov. Hodnotu IC20 nebolo možné určiť z lineárnej závislosti, keďže bola vytvorená len z štyroch bodov. Možno skonštatovať, že najväčšia inhibícia rastu koreňkov šalátu hlávkového *Lactuca sativa* L. po 96 hod., odroda Safír, nastala v rozmedzí koncentrácie 80,35 - 965,92 g/l testovanej rady vzorky stavebného odpadu. Stanovená hodnota IC50 zo sigmoidy za 96 hod. predstavuje koncentráciu 278,61 ± 1,53 g/l pre vzorku stavebného odpadu.

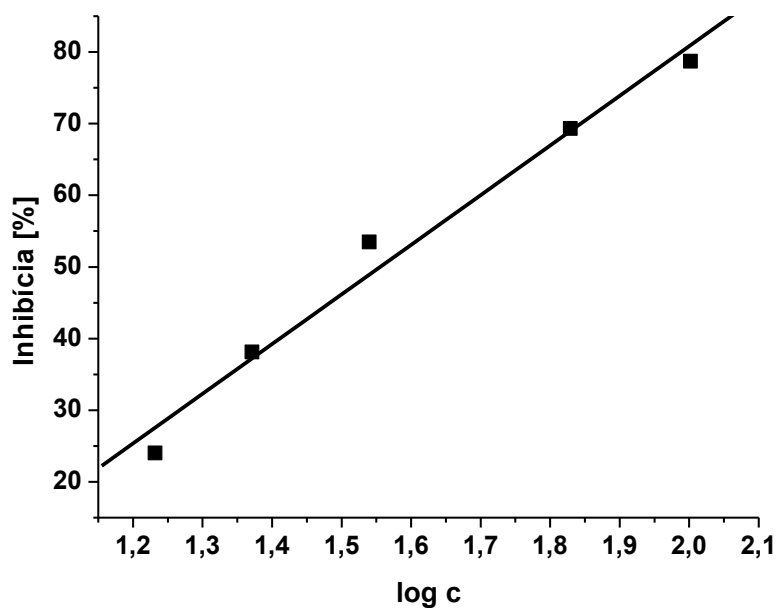
5.5.2. Kontaktný test semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom pre vzorku popolčeka

Hodnoty IC50 a IC80 pre 96 hodín trvajúci kontaktný test semichronickej toxicity pre popolček, boli určené zo sigmoidálnej závislosti inhibície rastu koreňkov šalátu na logaritme koncentrácie popolčeka, viz graf 3. Koncentrácia IC50 bola zistená i z lineárnej závislosti inhibície rastu koreňkov šalátu na logaritme koncentrácie popolčeka, viz graf 4.



Graf 3: Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov *Lactuca sativa* L. v % na logaritme koncentrácie popolčeka po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.

Dĺžky korienkov šalátu v mm, ktoré boli zmerané po uplynutí 96 hod. v teste semichronickej toxicity pre vzorku popolčeka sú uvedené v prílohe 5. V prílohe 6 sú uvedené inhibície rastu korienkov šalátu v %, ktoré boli použité pre vytvorenie grafov 3 a 4.



Graf 4: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov *Lactuca sativa* L. v % na logaritme koncentrácie popolčeka po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.

Tab. 13: Vyhodnotenie kontaktného testu semichronickej toxicity na *Lactuca sativa* L. pre vzorku popolčeka za 96 hodín zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti.

hodnota	sigmoidálna závislosť [g/l]	lineárna závislosť
IC50	13,44 ± 1,59	35,93
IC80	41,38	-
R	0,9990	0,9901

Pozn.:

R - koeficient korelácie.

Teplota počas testovania bola (24 ± 2) °C.

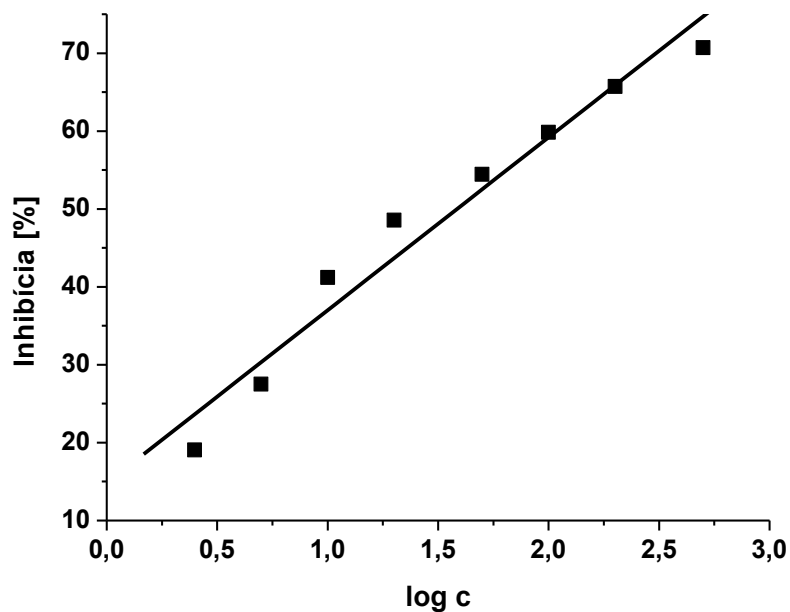
V tab. 13 sa nachádzajú inhibičné koncentrácie IC50 a IC80 zistené zo sigmoidy a IC50 zistená z lineárnej závislosti inhibície rastu korienkov šalátu na logaritme koncentrácie testovanej rady vzorky popolčeka. Hodnoty IC50 určené zo sigmoidálnej a priamkovej závislosti sa líšia, čo možno opäť prikladať rozdielnemu typu závislostí (priamka a sigmoida). Koncentrácia IC80 nebola určená z lineárnej závislosti, pretože táto závislosť bola vytvorená z prvých piatich bodov spadajúcich do lineárnej časti sigmoidy. Podľa vyššieho koeficientu korelácie možno sigmoidálnu závislosť považovať za presnejšiu. Za koncentráciu zistenú zo sigmoidálnej závislosti, ktorá spôsobila 50% inhibíciu rastu korienkov šalátu za 96 hod. sa považuje 13,44 ± 1,59 g/l pre popolček.

5.6. Test semichronickej toxicity na cibuli kuchynskej pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka

Pre posúdenie ekotoxicity vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka bola použitá cibuľa kuchynská *Allium cepa* L., ktorá sa všeobecne vyznačuje vysokou citlivosťou na fytotoxicitu testované látky. Test semichronickej toxicity na cibuli bol najskôr prevádzaný pre K₂Cr₂O₇, čiže štandardnú látku a výsledkom bolo určenie IC50 = 0,55 ± 0,08 mg/l za 72 hod., ktorá je v súlade s hodnotami v štúdiu autora testu [65].

5.6.1. Test semichronickej toxicity na cibuli kuchynskej pre vodný výluh stavebného odpadu

Z lineárnej závislosti inhibície rastu korienkov cibule kuchynskej na logaritme koncentrácie roztokov vodného výluhu stavebného odpadu, viz graf 5, boli určené inhibičné koncentrácie IC20 a IC50 po 72 hodinách.



Graf 5: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov *Allium cepa* L. v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 72 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

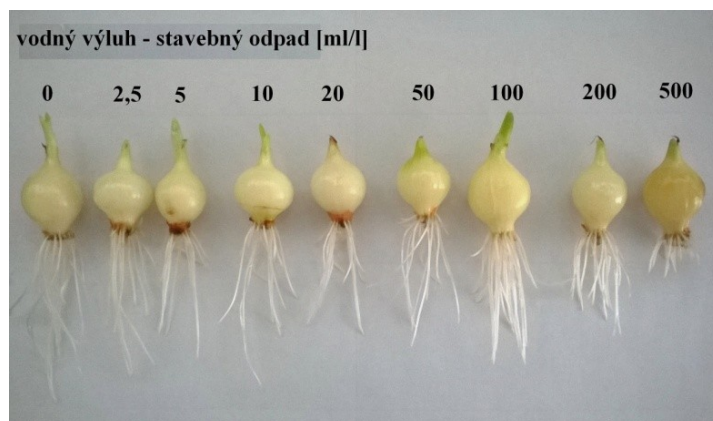
Tab. 14: Vyhodnotenie semichronického testu toxicity na *Allium cepa* L. pre vodný výluh stavebného odpadu za 72 hod. z lineárnej závislosti.

hodnota	lineárna závislosť [ml/l]
IC20	1,71
IC50	38,48
R	0,9803

Pozn.:

R - koeficient korelácie.

Teplota počas testovania bola $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



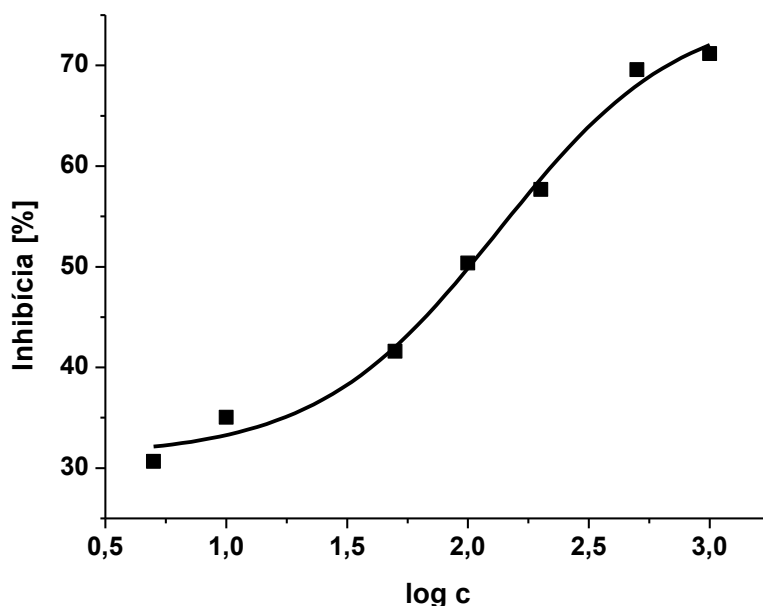
Obr. 12: Cibulky po 72 hod. orientačnom teste vo vodnom výluhu stavebného odpadu pred zahájením merania dĺžky korienkov a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ [foto autorka].

Na obr. 13 je viditeľné postupné skracovanie sa korienkov jednotlivých cibuliek, ktoré boli na 72 hod. ponorené od kontrolného roztoku po najviac koncentrovaný roztok vodného výluhu stavebného odpadu. Dĺžky korienkov sú uvedené v prílohe 7.

Závislosť inhibície korienkov cibule v % na logaritme koncentrácie roztokov vodného výluhu stavebného odpadu prirodzene vykazovala lineárnu závislosť a preto nebola preložená sigmoidou, ale priamkou. Inhibičné koncentrácie uvedené v tab. 14, boli teda zistené z lineárnej závislosti, viz graf 5 pre 72 hod. test semichronickej toxicity na cibuli pre vodný výluh stavebného odpadu. Hodnotu IC80 nebolo možné z uvedenej závislosti stanoviť, pretože najvyššia dosiahnutá inhibícia predstavuje 70,7 %, viz príloha 8. Za presnejšiu sa v tomto teste považuje lineárna závislosť s inhibíciou v % vďaka vyššiemu koeficientu korelácie. Koncentrácia roztoku vodného výluhu stavebného odpadu, ktorá spôsobí 20% inhibíciu rastu korienkov cibule po 72 hod. je 1,71 ml/l. Hodnota IC50 stanovená za 72 hod. je rovná koncentrácii 38,48 ml/l vodného výluhu stavebného odpadu.

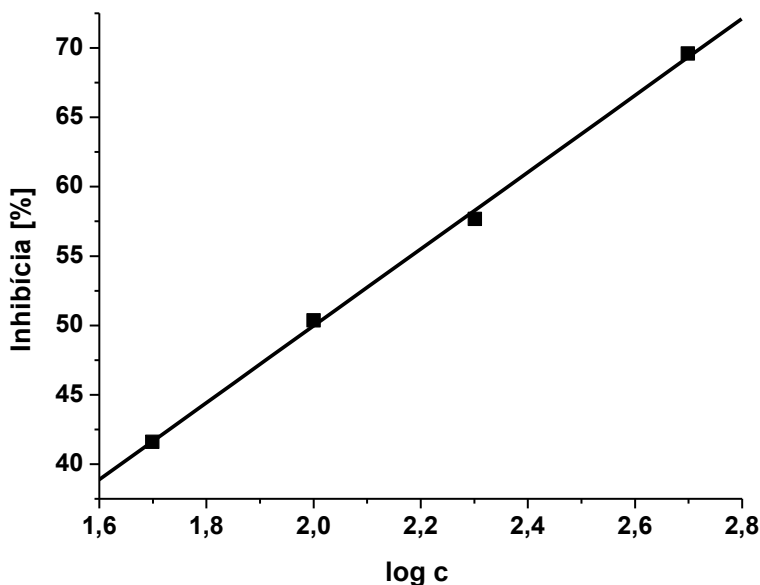
5.6.2. Test semichronickej toxicity na cibuli kuchynskej pre vodný výluh popolčeka

Po zostrojení sigmoidálnej závislosti inhibície rastu korienkov cibule na logaritme koncentrácie rady roztokov vodného výluhu popolčeka, viz graf 6 a vylúčení odľahlého bodu, bola určená koncentrácia IC50.



Graf 6: Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov *Allium cepa* L. v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ po 72 hodinách.

Dĺžky korienkov cibuliek nameraných po ukončení testu sú uvedené v prílohe 9. Dáta, z ktorých boli vytvorené grafy 6 a 7 sa nachádzajú v prílohe 10. Vybrané body lineárnej časti sigmoidy boli preložené priamkou, viz graf 7 a z jej rovnice bola vypočítaná hodnota IC50.



Graf 7: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov *Allium cepa* L. v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ po 72 hodinách.

Tab. 15: Vyhodnotenie semichronického testu toxicity na *Allium cepa* L. pre vodný výluh popolčeka za 72 hodín zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti.

hodnota	sigmoidálna závislosť [ml/l]	lineárna závislosť
IC50	$133,66 \pm 1,23$	100,28
R	0,9968	0,9992

Pozn.:

R - koeficient korelácie.

Teplota počas testovania bola $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

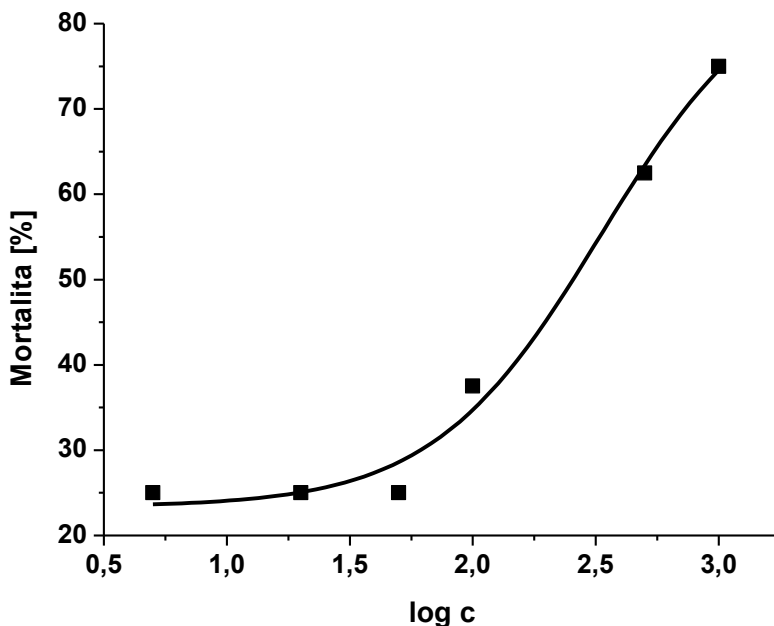
Koncentrácie IC50 zistené zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti inhibície rastu korienkov cibule na logaritme roztokov výluhu popolčeka sú uvedené v tab. 15. Opäť sa za príčinu nerovnosti hodnôt IC50 považuje rozdielna presnosť uvedených závislostí z dôvodu odlišného priebehu kriviek. Lineárna závislosť, ktorá je podľa korelačného koeficientu presnejšia oproti sigmoidálnej, bola zostrojená len zo štyroch bodov lineárnej časti sigmoidy, preto sa uvádza hodnota IC50 stanovená z presnejšej sigmoidálnej závislosti za 72 hod. rovná koncentrácii $133,66 \pm 1,23$ ml/l roztoku vodného výluhu popolčeka.

5.7. Test akútnej toxicity na nitel'niciach pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka

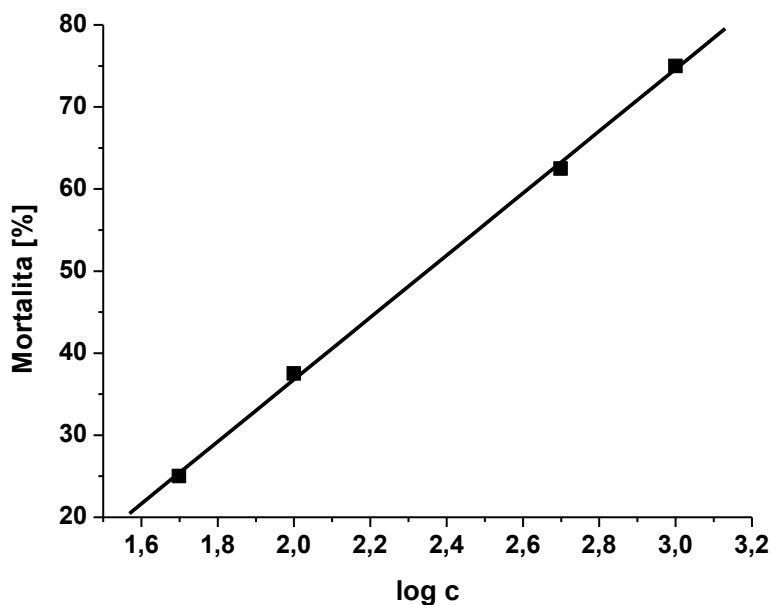
Akútna toxicita bola testovaná na nitel'niciach najskôr pre $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pričom bola určená hodnota $\text{EC}_{50} = 0,56 \pm 1,04 \text{ mg/l}$ po 6 hodinách. Keďže štandardný test pre vodné výluhy [66] priniesol po 3 minútach negatívne výsledky, nitel'nice boli pozorované niekoľko dní a mŕtve jedince počítané v časových intervaloch uvedených v podkapitole 4.8.2.

5.7.1. Test akútnej toxicity na nitel'niciach pre vodný výluh stavebného odpadu

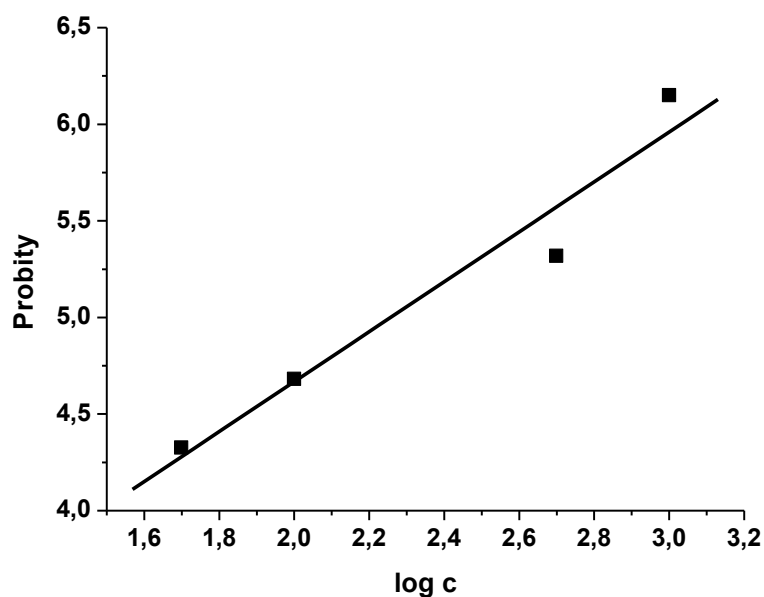
Grafy sigmoidálnej a lineárnych závislostí mortality nitel'níc v % a probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu, viz grafy 8, 9 a 10 boli vytvorené v programe Origin 7.5 z výsledkov získaných po 12 dňoch testovania koncentračnej rady, keďže dovtedy bola úmrtnosť nitel'níc veľmi nízka. Podľa výsledkov testu uvedených v prílohe 12, možno nitel'nice považovať za organizmy dostatočne odolné voči toxicite vodného výluhu stavebného odpadu s ohľadom na ich rozmery a schopnosť prežiť i s nedostatkom potravy a kyslíka [55].



Graf 8: Sigmoidálna závislosť mortality nitel'níc v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 9: Lineárna závislosť mortality niteľníc v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 10: Lineárna závislosť mortality niteľníc v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Tab. 16: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na niteľniciach pre vodný výluh stavebného odpadu za 12 dní pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí.

hodnota	sigmoidálna závislosť	lineárna závislosť [ml/l]	probitová analýza
EC50	$330,90 \pm 1,75$	223,61	180,85
R	0,9951	0,9996	0,9730

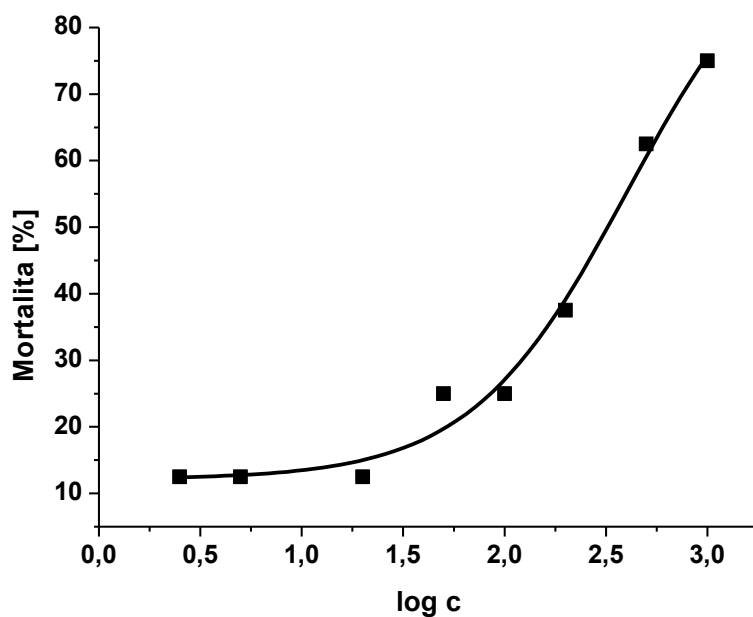
Pozn.:

R - koeficient korelácie.

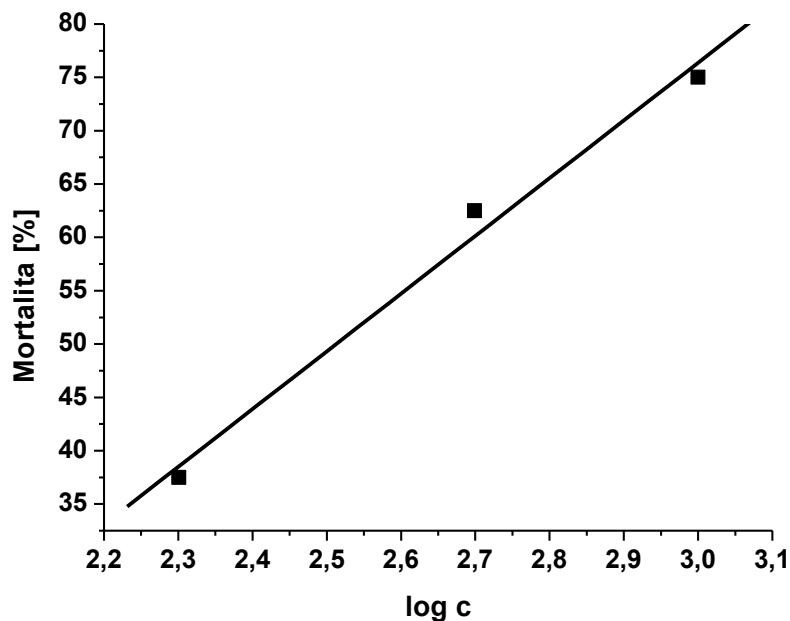
Keďže lineárne závislosti boli vytvorené zo štyroch bodov lineárnej časti sigmoidy možno usúdiť, že v dôsledku iného priebehu a tým aj presnosti kriviek, viz grafy 8, 9 a 10 sa uvádza efektívna koncentrácia EC50 zistená zo sigmoidálnej závislosti. Hodnota EC50 určená za 12 dní predstavuje $330,90 \pm 1,75$ ml/l roztoku vodného výluhu stavebného odpadu, viz tab. 16. Keďže sa jednalo o akútny test toxicity je nutné uviesť, že k úmrtnosti niteľníc nemuselo dôjsť len na základe pôsobenia roztokov vodného výluhu odpadu, ale vzhľadom na trvanie testu i z dôvodu podmienok testovania (najmä nedostatkom potravy a kyslíka).

5.7.2. Test akútnej toxicity na niteľniciach pre vodný výluh popolčeka

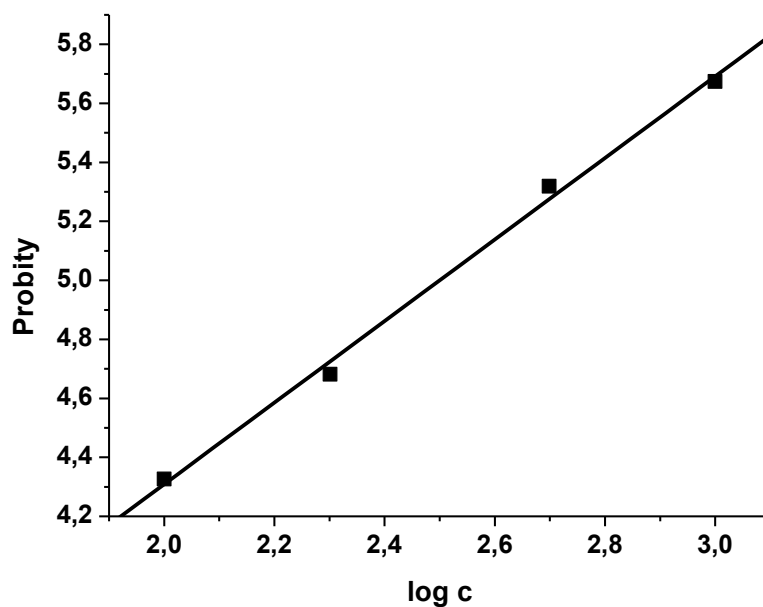
Úmrtnosť niteľníc v % a v probitoch po 9 dňoch od nasadenia bola vynesená oproti logaritme koncentrácie roztokov vodného výluhu popolčeka a preložená sigmoidou i priamkou, viz grafy 11, 12 a 13.



Graf 11: Sigmoidálna závislosť mortality niteľníc v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch pri teplote (20 ± 2) °C.



Graf 12: Lineárna závislosť mortality nitel'nic v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 13: Lineárna závislosť mortality nitel'nic v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Z výsledkov mortality nitel'nic v % vyplýva, že predošlých časových intervaloch bola úmrtnosť nízka a nedovoľovala vytvorenie sigmoidálnej závislosti, viz príloha 14. Rovnako ako v prípade predošlého testu na nitel'niciach možno skonštatovať, že nitel'nice sú odolné organizmy voči toxicite vodného výluhu a nie sú vhodné pre testovanie vodných výluhov stavebného odpadu i popolčeka.

Tab. 17: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na nitel'niciach pre vodný výluh popolčeka za 9 dní zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí.

hodnota	sigmoidálna závislosť	lineárna závislosť [ml/l]	probitová analýza
EC20	117,28	-	-
EC50	401,88 ± 1,75	325,62	316,23
R	0,9943	0,9939	0,9980

Pozn.:

R - koeficient korelácie.

Teplota počas testovania bola (20 ± 2) °C.

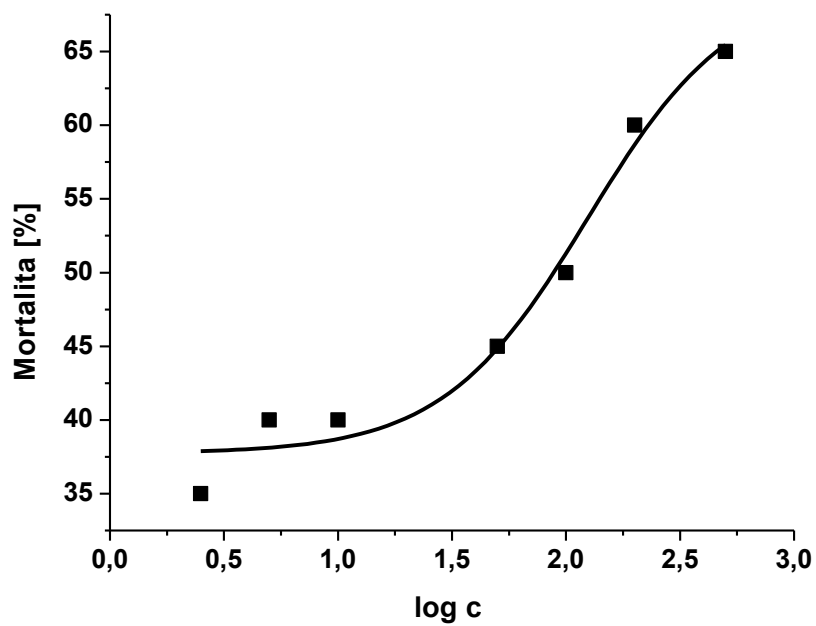
Efektívne koncentrácie zistené zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí sú pre porovnanie uvedené v tab. 17. Hodnoty EC50 sa líšia z dôvodu rozdielneho priebehu kriviek a teda i presnosti. Podľa koeficientu korelácie je najpresnejšia lineárna závislosť mortality nitel'nic v probitoch na logaritme koncentrácie rady roztokov výluhu, ktorá však bola vytvorená len zo štyroch bodov lineárnej časti sigmoidy. Uvádza sa preto koncentrácia EC50 určená zo sigmoidy, ktorá po 9 dňoch odpovedá 401,88 ± 1,75 ml/l roztoku vodného výluhu popolčeka. K úmrtnosti nitel'nic mohlo dôjsť i v dôsledku podmienok testu, keďže dĺžka trvania testu bola 9 dní. Takisto, ako v predchádzajúcom prípade, nebolo možné stanoviť hodnotu EC20 a EC80 (viz sigmoida z grafu 8) a hodnotu EC80 (viz sigmoida z grafu 11), lebo sa jednalo o krajné body sigmoidy a presnosť je vtedy nízka.

5.8. Test akútnej toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu a popolčeka

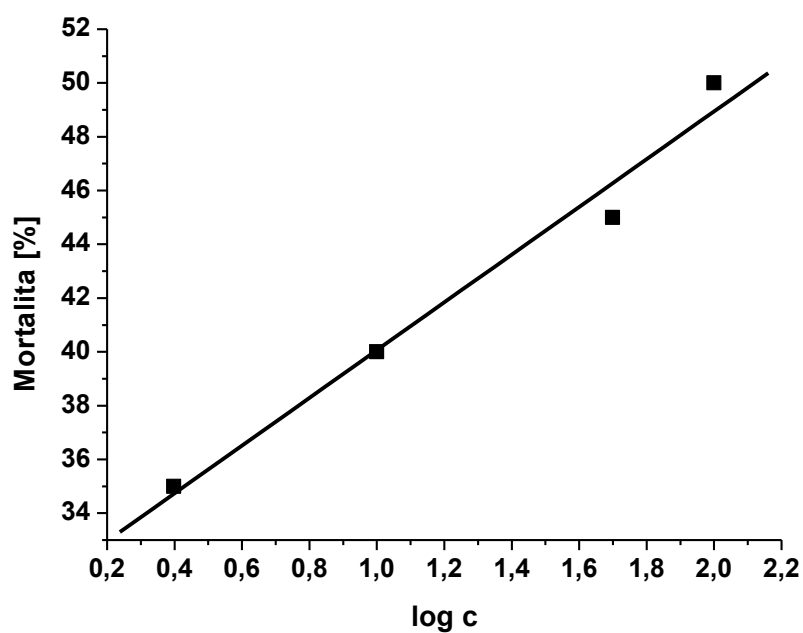
Test akútnej toxicity na perloočkách bol najskôr prevádzaný pre štandardnú látku K₂Cr₂O₇, pričom bola stanovená hodnota EC50 = 1,58 ± 0,03 mg/l za 24 hodín a EC50 = 0,87 ± 0,12 mg/l za 48 hodín. Obe stanovené koncentrácie sú v súlade s normou ČSN EN 6341 [57].

5.8.1. Test akútnej toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu

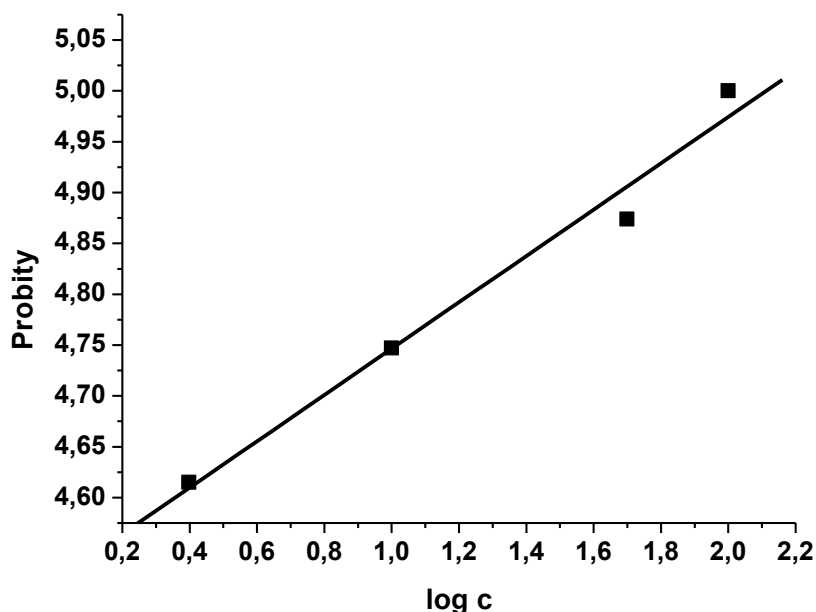
V teste bola po 24 hod. dosiahnutá v priemere len 30% úmrtnosť, viz príloha 15. Mortalita jedincov v % po 48 hod. je uvedená v prílohe 16. Hodnoty efektívnych koncentrácií, boli určené zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí mortality perloočiek v % a v probitoch na logaritme koncentrácie roztokov vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod., viz grafy 14, 15 a 16.



Graf 14: Sigmoidálna závislosť mortality *Daphnia magna* v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod. pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 15: Lineárna závislosť mortality *Daphnia magna* v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod. a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 16: Lineárna závislosť mortality *Daphnia magna* v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod. a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Tab. 18: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu za 48 hod. zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí.

hodnota	sigmoidálna závislosť	lineárna závislosť [ml/l]	probitová analýza
EC50	$123,97 \pm 1,54$	131,53	129,55
R	0,9883	0,9887	0,9896

Pozn.:

R - koeficient korelácie,

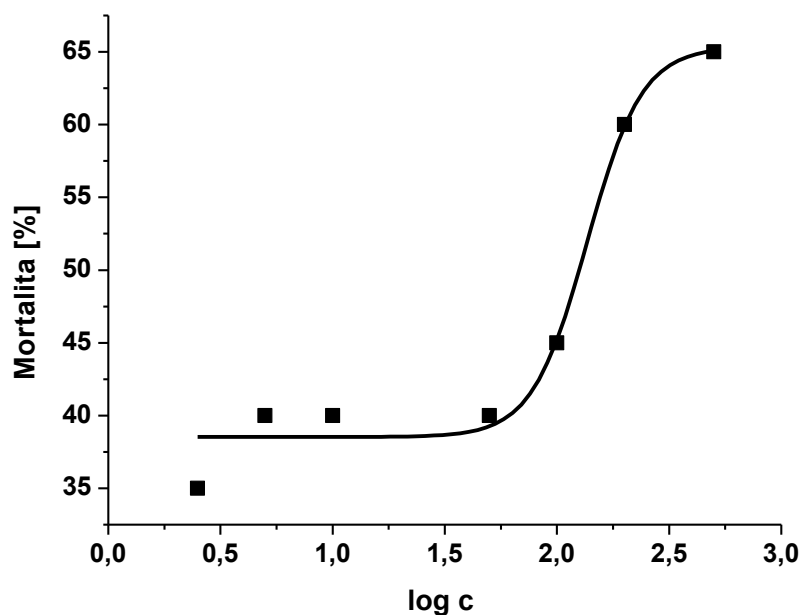
Teplota počas testovania bola $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Hodnoty EC50 uvedené v tab. 18 boli zistené zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí. Podľa korelačného koeficientu sa za presnejšiu považuje lineárna závislosť mortality perloočiek v probitoch na logaritme koncentrácie roztokov výluhu, ktorá však bola vytvorená len zo štyroch bodov lineárnej časti sigmoidálnej závislosti, preto sa uvádza efektívna koncentrácia zistená zo sigmoidy, ktorá spôsobí 50% úmrtnosť perloočiek za 48 hod. rovná $123,97 \pm 1,54$ ml/l roztoku vodného výluhu stavebného odpadu.

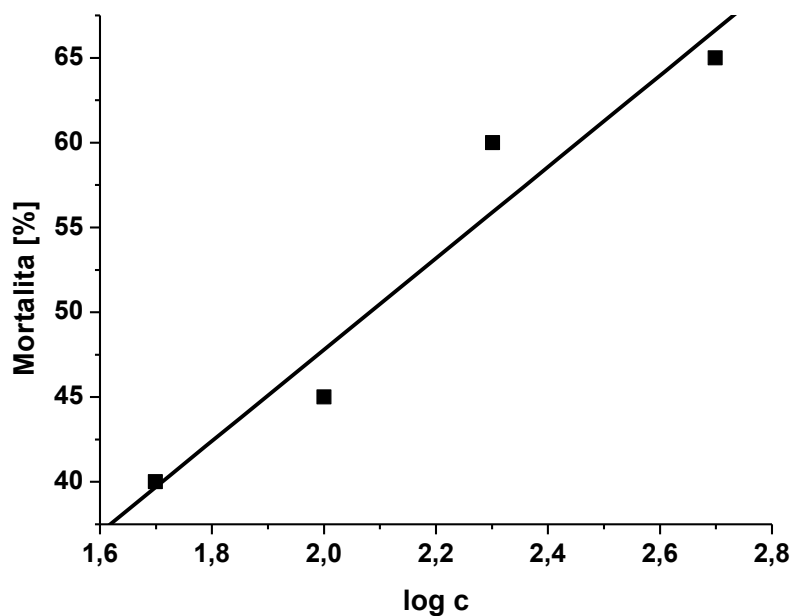
5.8.2. Test akútnej toxicity na perloočkách pre vodný výluh popolčeka

Po 24 hodinách od zahájenia testu bola úmrtnosť perloočiek nižšia než 50 %, viz príloha 17, preto boli jedince pozorované ďalších 24 hodín. Následne bola zo zistených hodnôt vypočítaná priemerná úmrtnosť perloočiek v %, ktorá bola vynesená oproti

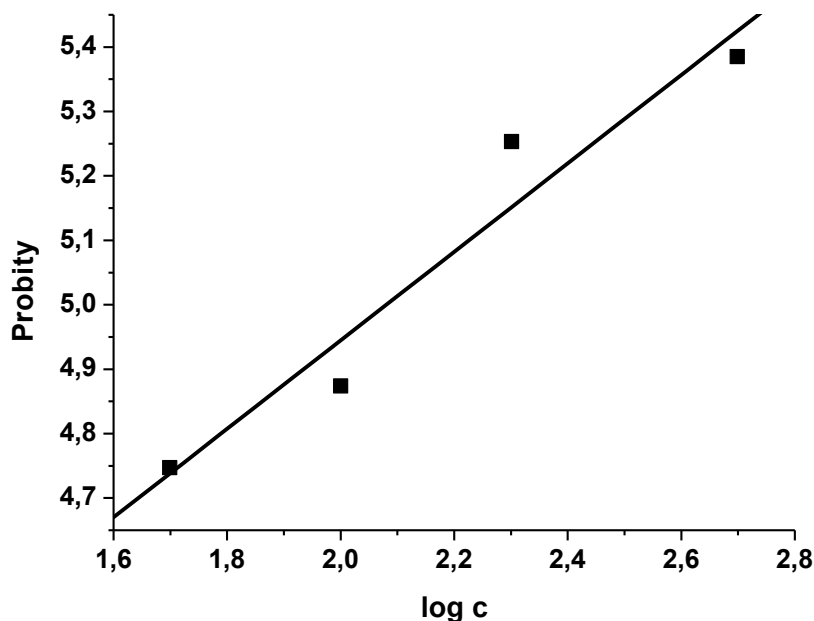
logaritme koncentrácie roztokov vodného výluhu popolčeka, viz príloha 18 a preložená sigmoidou a priamkami, viz grafy 17, 18 a 19.



Graf 17: Sigmoidálna závislosť mortality *Daphnia magna* v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 48 hod. a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 18: Lineárna závislosť mortality *Daphnia magna* v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 48 hod. a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.



Graf 19: Lineárna závislosť mortality *Daphnia magna* v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 48 hod a pri teplote (20 ± 2) °C.

Tab. 19: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na perloočkách pre vodný výluh popolčeka za 48 hod. zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí.

hodnota	sigmoidálna závislosť	lineárna závislosť [ml/l]	probitová analýza
EC50	136,33 ± 1,15	120,77	120,36
R	0,9851	0,9673	0,9687

Pozn.:

R – koeficient korelácie.

Teplota počas testovania bola (20 ± 2) °C.

Hodnoty EC50 uvedené v tab. 19 sa líšia v dôsledku rozdielnej presnosti, ktorá je vyššia u sigmoidálnej závislosti. Hodnota koncentrácie EC50 zistená zo sigmoidy po 48 hod. testovania predstavuje $136,99 \pm 1,16$ ml/l vodného výluhu popolčeka. Z výsledkov vyplýva, že nebolo možné stanoviť hodnoty EC20 a EC80 (viz sigmoidy z grafu 14 a 17), lebo sa jednalo o krajné body sigmoidy a presnosť je vtedy opäť nízka.

5.9. Porovnanie výsledkov vybraných testov s výsledkami niektorých štúdií

Inhibície korenkov šalátu hlávkového dosiahnuté teste semichronickej toxicity na pevnej vzorke popolčeka a imobilizácia perloočiek získaná v akútnom teste toxicity pre vodné

výluhy stavebného odpadu a popolčeka boli porovnané s výsledkami vybraných štúdií, viz tab. 20.

Tab. 20: Porovnanie výsledkov testov vzoriek popolčeka a stavebného odpadu s výsledkami vybraných štúdií.

vzorka	<i>Daphnia magna</i> , 24 - 48 hod.	<i>Lactuca sativa</i> L., 96 - 120 hod.
	[imobilizácia]	[inhibícia]
elektrárenský popolček, Dětmárovice, (vodný výluh; 500 ml/l)	65,0 %	-
popolček z fluidného spaľovania, (neriedený výluh; pH 7,8 ± 0,2) [62]	20,0 %	-
elektrárenský popolček, Dětmárovice (pevná vzorka; 334,2 g/l)	-	86,5 %
popolček z elektroodlučovačov (pevná vzorka; 500 g/kg) [59]	-	55,6 %
stavebný odpad (vodný výluh; 500 ml/l)	65,0 %	-
betón (neupravený vodný výluh, pH 10 - 12) [63]	100 %	-

Na základe porovnania výsledkov z tab. 20 možno uviesť, že dosiahnutá imobilizácia je v neriedenom vodnom výluhu popolčeka z fluidného spaľovania použitom v akútnej teste na *Daphnia magna* v štúdiu [62] (2012) výrazne nižšia než imobilizácia v teste akútnej toxicity pre vodný výluh elektrárenského popolčeka s koncentráciou 500 ml/l. Výsledky imobilizácie sú uvádzané po 48 hod. expozície.

V prípade porovnania kontaktných testov na šaláte siatom je nutné uviesť, že porovnávané testy majú rozdielnú dĺžku trvania. Zatiaľ čo test pre elektrárenský popolček trval 96 hod., test pre popolček z elektroodlučovačov trval 120 hodín. I keď majú porovnávané vzorky rozdielnú koncentráciu, možno uviesť že po 96 hod. bola u vzorky elektrárenského popolčeka dosiahnutá vyššia inhibícia než v prípade kontaktného testu semichronickej toxicity na šaláte siatom za 120 hod., ktorý bol súčasťou štúdie [59] (2011).

Vodný výluh stavebného odpadu o koncentrácii 500 ml/l bol tiež vystavený 48 hod. testu akútnej toxicity na *Daphnia magna* a výsledkom bola 65% imobilizácia perloočiek. Súčasťou štúdie [63] (2013) bolo prevedenie rovnakého testu pre neriedený vodný výluh betónu s pH 10 - 12, ktorý spôsobil po 24 hod. expozícii 100% imobilizáciu *Daphnia magna*, čo v porovnaní s výsledkom imobilizácie pre výluh stavebného odpadu je podstatne nižšia hodnota.

6. ZÁVER

Táto diplomová práca bola zameraná na posúdenie ekotoxicity stavebného odpadu pochádzajúceho z trafostanice v Ostrave - Dolných Vítkovic. Nad rámec diplomovej práce bola posúdená ekotoxicita elektrárenského popolčeka z Dětmarovic. Podľa dostupnosti a vhodnosti pre testovanie vodných výluhov vzoriek boli vybrané ekotoxikologické testy semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom (*Lactuca sativa* L.) a cibuli kuchynskej (*Allium cepa* L.) a test akútnej toxicity na nitel'niciach (*Tubifex tubifex*). Navyše bol prevedený akútny test toxicity na perloočkách (*Daphnia magna*) pre vodné výluhy oboch vzoriek. Pre semichronický test na šaláte sa vodné výluhy stavebného odpadu a popolčeka nepreukázali ako vhodné, preto boli použité v kontaktnom teste semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom. Avšak vodné výluhy vzoriek boli použité v semichronickom teste toxicity na cibuli.

Z porovnania semichronických testov možno považovať test na cibuli za výraznejšie citlivý oproti kontaktnému testu na šaláte, keďže ním bola zo sigmoidálnej závislosti určená najnižšia inhibičná koncentrácia $72hIC_{50} = 38,48$ ml/l pre vodný výluh stavebného odpadu. Pre vodný výluh popolčeka bola testom na cibuli určená zo sigmoidy tiež najnižšia koncentrácia $72hIC_{50} = 133,66 \pm 1,23$ ml/l. Odlišnosť koncentrácií stanovených testom na šaláte a cibuli možno odôvodniť tým, že zatiaľ čo test na cibuli bol použitý pre vodné výluhy vzoriek, šalát hlávkový bol použitý v kontaktnom teste semichronickej toxicity pre obe vzorky. Výsledky kontaktného testu preto môžu byť ovplyvnené i prítomnosťou zle rozpustných alebo nerozpustných látok vo vzorkách na rozdiel od vodných výluhov.

Testy akútnej toxicity na nitel'niciach a perloočkách majú z pohľadu vzájomného porovnania rozdielnu citlivosť. Za citlivejší testovaný organizmus sa považuje perloočka, pretože pôsobením rôzne koncentrovaných vodných výluhov vzoriek na nitel'nice bola dosiahnutá mortalita nad 50% po 9 dňoch expozície pre popolček a 12 dňoch pre stavebný odpad. Podľa efektívnych koncentrácií stanovených testom akútnej toxicity na nitel'niciach sa tento test neodporúča pre vodné výluhy obdobných vzoriek vzhľadom na ich odolnosť voči silne znečistenému prostrediu a schopnosti prežiť i s nedostatkom potravy a kyslíka.

Z vyhodnotenia testov použitých pre vodné výluhy stavebného odpadu a popolčeka vyplýva, že nižšie koncentrácie IC_{50} , resp. EC_{50} , boli dosiahnuté u vodného výluhu stavebného odpadu, preto je o niečo toxickjší oproti výluhu popolčeka. Vodné výluhy oboch

vzoriek vykazovali pre šalát stimuláciu rastu korenkov a preto sú pre neho netoxické. Podľa výsledkov kontaktného testu semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom, možno považovať za toxickejšiu vzorku popolčeka. Toxicita testovaných vzoriek preto výrazne závisí na tom, či sa test ekotoxicity prevádza na pevnom materiáli, alebo je použitý pre vodný výluh. Porovnanie dosiahnutých inhibícií korenkov šalátu, resp. imobilizácie a mortality perloočiek pôsobením vodných výluhov vzoriek s výsledkami vybraných štúdií ukázalo vyššie ekotoxické účinky u vodných výluhov stavebného odpadu a popolčeka.

Podľa aktuálneho Metodického pokynu odboru odpadov k stanoveniu ekotoxicity odpadov je nositeľom nebezpečnej vlastnosti H14 Ekotoxická ten odpad, ktorého štandardný vodný výluh vykazuje pre aspoň jeden z odporúčaných testov akútnej toxicity pri určenej dobe pôsobenia na daný organizmus hodnoty LC (EC, IC) $50 \leq 10$ ml/l. Z tohto pokynu ďalej vyplýva, že pre použitie pevného odpadu na povrch terénu alebo pri rekultiváciách nemôže byť pozorovaný žiadny toxický účinok výluhu pre ryby (*Poecilia reticulata* alebo *Brachydanio rerio*). Na organizmoch (*Sinapis alba* L., *Desmodesmus subspicatus* a *Daphnia magna*) nemôže byť pozorovaný toxický účinok výluhu viac než 30 % v porovnaní s kontrolou. Testom akútnej toxicity na *Daphnia magna*, ktorý patrí k odporúčaným testom, boli zo sigmoidálnych závislostí stanovené koncentrácie $48\text{hEC}_{50} = 123,97 \pm 1,54$ ml/l pre vodný výluh stavebného odpadu a $48\text{hEC}_{50} = 136,33 \pm 1,15$ ml/l pre vodný výluh popolčeka. Uvedené koncentrácie sú výrazne vyššie než LC (EC, IC) $50 \leq 10$ ml/l, preto vzorky stavebného odpadu i popolčeka možno považovať podľa uvedeného pokynu za netoxické. Dosiahnutá imobilizácia a mortalita perloočiek po 48 hod. prevyšuje 30% pre neriedené štandardné výluhy vzoriek. Testované vzorky odpadov sa preto neodporúča v súlade s uvedeným pokynom použiť na povrch terénu alebo pri rekultiváciách.

Vodné výluhy stavebného odpadu a popolčeka, ktoré boli podrobené vybraným ekotoxikologickým testom, možno považovať za mierne toxické pre rastliny šalát hlávkový a cibuľu kuchynskú, ako aj pre perloočky. Vodné výluhy vzoriek nemusia vždy vykazovať určitú toxicitu pre každý testovaný organizmus, čo potvrdzuje akútny test toxicity na nitelnicach. Hodnoty IC_{50} , resp. EC_{50} , určené kontaktnými testami, môžu byť odlišné od koncentrácií stanovených v testoch pre vodné výluhy vzoriek stavebného prípadne priemyselného odpadu z dôvodu ich odlišného zloženia, ako napríklad obsah SiO_2 v pevných vzorkách, ktorý kvôli nerozpustnosti do výluhu neprešiel.

Pre rozšírenie poznatkov v oblasti posúdenia ekotoxicity týchto vzoriek sa odporúčajú testy akútnej toxicity na rybách (*Poecilia reticulata* alebo *Brachydanio rerio*), riase (*Desmodesmus subspicatus*), ktoré odporúča i Metodický pokyn odboru odpadov k stanoveniu ekotoxicity odpadov. Medzi ďalšie navrhované testy možno zaradiť i test zhasenia bioluminiscencie na baktérii *Vibrio fischeri*, určenie množstva chlorofylov na žaburinke menšej (*Lemna minor* L.) a tiež test reprodukčnej toxicity na chvostoskokoch (*Folsomia candida*).

7. LITERATÚRA

- [1] *Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů*. In: . Praha: Ministerstvo životního prostředí České republiky, 2007.
- [2] GRÜNNER, Karol. *Možnosti opätovného použitia stavebných materiálov*. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 2010.
- [3] Stavební a demoliční odpady. *Ministerstvo životního prostředí* [online]. [cit. 2016-01-27]. Dostupné z: http://www.mzp.cz/cz/stavebni_demolicni_odpady.
- [4] WU, Zezhou, YU, Ann T.W., SHEN, Liyin a Guiwen LIU. Quantifying construction and demolition waste: An analytical review. *Waste Management*. 2014, **34** (9), 1683-1692.
- [5] DEL RIO MERINO, Mercedes, IZQUIERDO GRACIA, Pilar, WEIS AZEVEDO, Isabel Salto. Sustainable construction: construction and demolition waste reconsidered. *Waste Management & Research*. 2010, **28** (2), 118-129.
- [6] KURAŠ, Mečislav a Vojtech DIRNER. *Modul 6: Odpadové hospodářství* [online]. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 76 s. Dostupné z: <http://www.hgf.vsb.cz/export/sites/hgf2/instituty-a-pracoviste/cs/546/studijni-materialy/EV-modul6.pdf>.
- [7] SILVA, R.V., DE BRITO, J., DHIR, R.K. Properties and composition of recycled aggregates from construction and demolition waste suitable for concrete production. *Construction and Building Materials*. 2014, **65**, 201-217.
- [8] MARŠÁLKOVÁ, Eliška a Jitka MALÁ. Vliv solidifikace na vyluhovatelnost těžkých kovů z popílků a ekotoxicitu výluhů. *Chemické listy*. 2009, **103** (7), 595-598.
- [9] IZQUIERDO, Maria, QUEROL, Xavier. Leaching behaviour of elements from coal combustion fly ash: An overview. *International Journal of Coal Geology*. 2012, **94**, 54-66.
- [10] KRENÍKOVÁ, Věra. *Odpady a druhotné suroviny II*. Vyd. 2. Ústí nad Labem: Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, 2014, 208 s.
- [11] KALBE, Ute, BERGER, Wolfgang, ECKARDT, Jürgen, SIMON, Franz-Georg. Evaluation of leaching and extraction procedures for soil and waste. *Waste Management*. 2008, **28** (6), 1027-1038.
- [12] DELAY, Markus, LAGER, Tanja SCHULZ, Horst D., FRIMMEL, Fritz H. Comparison of leaching tests to determine and quantify the release of inorganic contaminants in demolition waste. *Waste Management*. 2007, **27** (2), 248-255.

- [13] MOSER, Heidrun, RÖMBKE, Jörg. *Ecotoxicological characterization of waste results and experiences of an international ring test*. New York: Springer Science & Business Media, 2009.
- [14] HORÁK, Jozef. Nový systém výstražných vět k označování rizikových vlastností chemických látek. *Chemické listy*. 2013, **107**, 563-600.
- [15] ROUSSAT, Nicolas, MÉHU, Jacques, ABDELGHAFOR, Mohamed, BRULA, Pascal. Leaching behaviour of hazardous demolition waste. *Waste Management*. 2008, **28** (11), 2032-2040.
- [16] Zdravotní nezávadnost stavebních odpadů. *Odpady-online* [online]. Praha: Profi Press s.r.o, 2004 [cit. 2016-01-27]. Dostupné z: <http://odpady-online.cz/zdravotni-nezavadnost-stavebnich-odpadu/>.
- [17] RUSHTON, Trevor. *Investigation hazardous and deleterious building materials*. Coventry: RICS, 2006.
- [18] GALVÍN, Adela P., AYUSO, Jesús, JIMÉNEZ, Jose Ramón, AGRELA, Francisco. Comparison of batch leaching tests and influence of pH on the release of metals from construction and demolition wastes. *Waste Management*. 2012, **32** (1), 88-95.
- [19] SEIDLEROVÁ, Jana. Hodnocení potenciální škodlivosti prvků pro životní prostředí. *Odpadové fórum*. 2004, **5** (9), 33-34.
- [20] BARBUDO, Auxi, GALVÍN, Adela P., AGRELA, Francisco, AYUSO, Jesús, JIMÉNEZ, Jose Ramón. Correlation analysis between sulphate content and leaching of sulphates in recycled aggregates from construction and demolition wastes. *Waste Management*. 2012, **32** (6), 1229-1235.
- [21] GALVÍN, Adela P., AYUSO, Jesús, AGRELA, Francisco, BARBUDO, Auxiliadora, JIMÉNEZ, José Ramón. Analysis of leaching procedures for environmental risk assessment of recycled aggregate use in unpaved roads. *Construction and Building Materials*. 2013, **40**, 1207-1214.
- [22] DEL REY, I., AYUSO, J., GALVÍN, A.P., JIMÉNEZ, J.R., LÓPEZ, M., GARCÍA-GARRIDO, M.L. Analysis of chromium and sulphate origins in construction recycled materials based on leaching test results. *Waste Management*. 2015, **46**, 278-286.
- [23] MEDINA, César, FRÍAS, Moisés, SÁNCHEZ DE ROJAS, María Isabel. Leaching in concretes containing recycled ceramic aggregate from the sanitary ware industry. *Journal of Cleaner Production*. 2014, **66**, 85-91.

- [24] VAN DER SLOOT, H.A., DIJKSTRA, J.J. *Development of horizontally standardized leaching tests for construction materials: a material based or release based approach? Identical leaching mechanisms for different materials*. Amsterdam: Energy Research Centre of the Netherlands. 2004.
- [25] KOČÍ, Vladimír a Olga HALOUSKOVÁ (eds.). *Ekotoxikologické biotesty 1: sborník pracovní konference : 18.-19.9.2002, Juniorcentrum, Seč u Chrudimi*. 1. vyd. Chrudim: Vodní zdroje Ekomonitor, 2002, 187 s.
- [26] HON, Zdeněk. *Základy toxikologie pro obor vodního hospodářství*. České Budějovice: Vysoká škola evropských a regionálních studií, 2013.
- [27] PAVLOVSKÝ, Jiří. *Toxikologie* [online]. Vyd. 1. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2014. Dostupné z: http://www.fmfi.vsb.cz/export/sites/fmfi/617/cs/ke-stazeni/Stud_opora_ModIn-Toxikologie-Jiri-Pavlovsky.pdf.
- [28] YU, Ming-Ho. *Environmental toxicology: biological and health effects of pollutants*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2005.
- [29] TIŠLER, Tatjana, ZAGORC-KONČAN, Jana. Aquatic toxicity of selected chemicals as a basic criterion for environmental classification. *Arh Hig Rada Tokiskol*. 2003, **54** (3), 207-213.
- [30] VALAVANIDIS, Athanasios, VLACHOGIANNI, Thomais. *Ecotoxicity Test Methods and Ecological Risk Assessment. Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology Tests under the Guidelines of International Organizations*. Athens: University of Athens, 2015, 29 s.
- [31] *Prudent Practices in the Laboratory*. Washington, D.C: National Academies Press, 2011.
- [32] KOČÍ, Vladimír, MOCOŮVÁ, Klára. *Ekotoxikologie pro chemiky*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009, 199 s.
- [33] PANÁČEK, Aleš, BALZEROVÁ, Anna. *Základy toxikologie a ekotoxikologie*. Vyd. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2013, 70 s.
- [34] HOFFMAN, David J. *Handbook of ecotoxicology*. 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2003.
- [35] WALUM, Erik. Acute oral toxicity. *Environmental Health Perspectives*. 1998, **2** (106), 497-503.
- [36] KAONGA, C. C., KUMWENDA, J., MAPOMA, H. T. Accumulation of lead, cadmium, manganese, copper and zinc by sludge worms; *Tubifex tubifex* in sewage

- sludge. *International Journal of Environmental Science & Technology*. 2010, **7** (1), 119-126.
- [37] SCHWARZ, Marián, LALÍK, Vladimír. Biologické účinky, vyluhovateľnosť a testovanie ekotoxicity odpadového kalu z výroby oxidu hlinitého. *Chemické listy*. 2011, **105** (7), 518-523.
- [38] ANDĚL, Petr. *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring*. Vyd. 1. Liberec: Evernia, 2011.
- [39] KOČÍ, Vladimír. Význam testů toxicity pro hodnocení vlivů látek na životní prostředí. *Chemické listy*. 2006, **10** (10), 882-888.
- [40] TSIRIDIS, V., PETALA, M., SAMARAS, P., KUNGOLOS, A., SAKELLAROPOULOS, G.P. Environmental hazard assessment of coal fly ashes using leaching and ecotoxicity tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2012, **84**, 212-220.
- [41] WILKE, B.M., RIEPERT, F., KOCH, Ch., KÜHNE, T. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008, **70** (2), 283-293.
- [42] *Vyhláška Ministerstva životního prostředí a Ministerstva zdravotnictví o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů*. In: . 376/2001.
- [43] ČSN EN 12457-4 *Charakterizace odpadů - Vyluhování - Ověřovací zkouška vyluhovatelnosti zrnitých odpadů a kalů - Část 4: Jednostupňová vsádková zkouška při poměru kapalně a pevné fáze 10 l/kg pro materiály se zrnitostí menší než 10 mm (bez zmenšení velikosti částic, nebo s ním)*. Praha: Český normalizační institut, 2003.
- [44] ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *Test No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil*. Ed. 9923. Paris: OECD Publishing, 2009.
- [45] KOČÍ, Vladimír, RAKOVICKÝ, Tomáš, ŠVAGR, Andrej. Testy akutní a semichronické toxicity. In: *Ekotoxikologie sweb* [online]. Praha: Ústav chemie ochrany prostředí, VŠCHT, 2001. Dostupné z: <http://ekotoxikologie.sweb.cz/toxlab/vyuka/obecna.htm>.
- [46] DZIK, Petr (ed.). *4th Meeting on Chemistry and Life: book of abstracts : Brno, September 9-11, 2008*. Brno: Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, 2008.

- [47] KOČÍ, Vladimír. Presentace výsledků ekotoxikologických dat. In: *Ekotoxikologie sweb* [online]. Praha: Ústav chemie ochrany prostředí, VŠCHT Praha, 2000. Dostupné z: <http://ekotoxikologie.sweb.cz/toxlab/knihovna/data.htm>.
- [48] *Lactuca sativa*. *Encyclopedia of life* [online]. 2005. Dostupné z: <http://eol.org/pages/468144/details>.
- [49] ISO 17126. *Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Sacreening test for emergence of lettuce seedlings (Lactuca sativa L.)*. Geneva, 2005.
- [50] STARR, Forest a Kim STARR. *Lactuca sativa L. - Garden Lettuce*. In: *BioLib* [online]. 2008. Dostupné z: <http://www.biolib.cz/IMG/GAL/BIG/54750.jpg>.
- [51] *Allium Cepa* [online]. Gale Encyclopedia of Alternative Medicine, 2005. Dostupné z: <http://www.encyclopedia.com/topic/Onions.aspx>.
- [52] PAVLOVSKÝ, Jiří. *Cvičení z ekotoxikologických testů* [online]. FMFI, VŠB - TUO. Ostrava, 2015. Dostupné z: <http://www.fmfi.vsb.cz/export/sites/fmfi/617/cs/ke-stazeni/EKOTOXIKOLOGICKE-TESTY-cviceni.pdf>.
- [53] BALLNÉROVÁ, Petra. *Ekotoxikologické testy a jejich aplikace k hodnocení vedlejších energetických produktů*. Brno, 2009. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.
- [54] ALLIUM CEPA. In: *Homeopathique Pour Tout* [online]. Dostupné z: <http://homeopourtous.com/wp-content/uploads/2014/04/Allium-Cepa1.jpg>.
- [55] *Tubifex tubifex*. *Encyclopedia of Life* [online]. 2009. Dostupné z: <http://eol.org/pages/620440/details>.
- [56] MÜLLER, O.F. *Tubifex tubifex* [online]. In: . 2005. Dostupné z: http://media.eol.org/content/2009/07/24/06/04063_orig.jpg.
- [57] ČSN EN ISO 6341. *Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) - Zkouška akutní toxicity*. Praha: Český normalizační institut, 2013.
- [58] DURRETTE, Fredric. *Daphnia magna 3*. In: *Snakesafe* [online]. 2011. Dostupné z: <http://snakesafe.jalbum.net/Micro-life%20II/slides/Daphnia%20magna%203.jpg>.
- [59] *Analytika odpadů : sborník konference : 30.11.-1.12.2011, Žďár nad Sázavou*. Chrudim: Vodní zdroje Ekomonitor spol. s.r.o., 2011.
- [60] *Týden vědy, výzkumu a inovací pro praxi 2013: 15.-19.4.2013, Kouty nad Desnou: Aprochem 2013 : 22. chemicko-technologická konference : 15.-17.4.2013 : OZE 2013: 4. ročník odborné konference : 17.-19.4.2013 : Odpadové fórum 2013 : 8.*

ročník česko-slovenského symposia : 17.-19.4.2013. Praha: České ekologické manažerské centrum, 2013, 1 CD-ROM.

- [61] GODINHO-CASTRO, Alcione P., TESTOLIN, Renan C., JANKE, Leandro, CORRÊA, Albertina X.R., RADETSKI, Claudemir M. Incorporation of gypsum waste in ceramic block production: Proposal for a minimal battery of tests to evaluate technical and environmental viability of this recycling process. *Waste Management*. 2012, **32** (1), 153-157.
- [62] VACENOVSKA, Bozena, DROCHYTKA, Rostislav. Development of a New Reclamation Material by Hazardous Waste Solidification/Stabilization. *Advanced Materials Research*. 2012, **446-449**, 2793-2799.
- [63] CHOI, Jae Bang, BAE, Sung Min, SHIN, Tae Young, AHN, Ki Yong, WOO, Soo Dong. Evaluation of *Daphnia magna* for the Ecotoxicity Assessment of Alkali Leachate from Concrete. *International Journal of Industrial Entomology*. 2013, **26** (1), 41-46.
- [64] ČSN ISO 11465 Kvalita půdy - Stanovení hmotnostního podílu sušiny a hmotnostní vlhkosti půdy - Gravimetrická metoda. Praha: Český normalizační institut, 1998.
- [65] FISKESJÓ, Geirid. Allium test I: A 2-3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (*allium cepa* L.). *Environmental Toxicology & Water Quality*. 1993, **8** (4), 461-470.
- [66] TICHÝ, M., ROTH, Z., BLÁHA, K., WORTH P., A. Alternativní metody testování toxicity chemických látek in silico. *Chemické Listy*. 2005, **99** (10), 675-681.
- [67] Brunauer, S., Emmet, P.H., Teller, E.J. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*. 1938, **60**, 1-309.
- [68] Horváth, G., Kawazoe, K. Method for the calculation of effective pore size distribution in molecular sieve carbon. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 1983. **16** (6), 470-475.
- [69] Barrett, E.P., Joyner, L. G., Halenda, P.P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. *Journal of the American Chemical Society*. 1951. **73** (1), 373-380.

8. PRÍLOHY

Príloha 1: Tabuľka s nameranými dĺžkami koreňkov šalátu siateho v mm pre rôzne koncentrované roztoky vodného výluhu popolčeka za 96 hodín pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

S	koncentrácie roztokov vodného výluhu popolčeka [ml/l]										
	0	2,5	5	10	20	50	100	200	500		
1.	21	17	14	8	16	10	12	13	16	15	10
2.	9	12	13	16	13	10	8	8	18	16	6
3.	20	10	21	7	7	12	10	14	15	11	13
4.	18	9	15	13	10	9	11	5	9	13	15
5.	14	8	15	5	8	5	11	10	6	9	15
6.	13	9	10	5	9	8	8	4	8	10	6
7.	12	13	8	10	6	12	3	5	6	10	11
8.	9	11	9	18	12	15	6	6	7	11	0
9.	13	12	2	8	11	13	8	1	6	2	0
10.	7	10	8	9	3	12	5	1	5	2	0
11.	5	7	8	17	4	10	3	0	7	9	0
12.	2	10	11	9	1	14	4	0	0	5	0
13.	1	9	4	4	1	4	0	0	0	3	0
14.	0	6	8	6	0	7	0	0	0	0	0
15.	0	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0
16.	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pozn.:

S - semienko šalátu.

Príloha 2: Výsledky orientačného testu semichronickej toxicity na šaláte hlávkovom pre rôzne koncentrované roztoky vodného výluhu popolčeka za 96 hodín.

c [ml/l]	log c	I [%]
2,5	0,39794	6,25
5	0,69897	29,86
10	1	2,08
20	1,30103	38,19
50	1,69897	53,47
100	2	28,47
200	2,30103	19,44
500	2,69897	47,22

Pozn.:

c - koncentrácia roztokov vodného výluhu popolčeka [ml/l],

I - inhibícia koreňkov šalátu [%].

Príloha 3: Tabuľky s dĺžkami koreňkov šalátu hlávkového v mm pre rôzne hmotnosti vzorky stavebného odpadu v základnom kontaktnom teste po 96 hod., pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

hmotnosti vzorky stavebného odpadu [g]																
	0				0,05			0,07			0,1			0,2		
n	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
S																
1.	20	26	28	23	29	21	22	27	19	22	15	24	23	20	16	10
2.	26	17	31	29	15	22	18	19	18	23	23	18	16	18	17	16
3.	27	29	22	18	13	24	21	26	20	6	13	21	24	15	15	19
4.	23	15	18	17	18	16	25	22	21	17	12	17	18	8	18	19
5.	27	25	15	24	18	18	21	21	26	25	6	11	16	17	18	12
6.	17	32	20	12	25	20	15	18	24	24	21	16	12	12	11	17
7.	18	20	29	28	15	20	18	22	17	14	14	22	19	19	18	25
8.	21	14	18	14	19	11	21	22	18	23	16	13	23	18	16	13
9.	22	12	24	18	29	4	23	13	14	17	19	24	18	14	19	20
10.	15	24	27	27	16	14	11	17	15	12	12	17	19	14	14	11
11.	3	29	18	11	21	13	24	20	22	22	25	10	17	20	7	21
12.	26	25	33	27	28	20	14	26	22	16	23	18	14	19	13	14
13.	25	26	27	12	23	16	28	12	33	23	21	10	26	14	19	22
14.	19	15	27	24	12	17	27	19	16	18	15	5	24	16	15	9
15.	30	27	23	31	19	20	22	28	4	21	18	8	19	9	15	15
16.	20	28	12	17	14	21	13	0	5	17	0	17	25	19	12	10
17.	8	24	34	14	14	18	20	0	1	16	0	15	16	20	18	10
18.	3	13	25	10	4	27	3	0	1	17	0	19	8	14	8	8
19.	1	0	21	0	19	22	0	0	0	6	0	24	0	0	7	1
20.	0	0	17	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0

hmotnosti vzorky stavebného odpadu [g]																		
n S	0,3			0,5			0,7			1			3			5		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1.	15	14	21	14	10	17	11	15	14	9	12	10	5	6	12	9	7	6
2.	21	10	20	9	9	18	14	13	8	14	13	8	5	9	8	11	7	7
3.	17	12	11	12	12	14	12	17	17	10	11	14	8	11	6	8	6	7
4.	14	19	18	14	11	22	10	11	16	16	7	13	5	8	7	6	5	8
5.	18	15	14	15	10	19	14	18	14	14	8	15	8	8	5	6	6	5
6.	12	23	14	25	12	14	6	10	17	15	6	12	6	9	7	5	6	6
7.	9	10	15	9	7	9	9	11	14	6	15	13	6	10	3	9	9	4
8.	17	21	17	12	9	9	13	13	16	9	11	8	5	7	7	7	7	3
9.	8	12	16	16	14	6	4	11	15	8	15	10	7	6	6	8	5	1
10.	14	15	20	16	14	16	14	13	20	11	10	13	0	4	6	9	4	3
11.	14	13	17	19	15	13	16	15	12	10	9	13	0	5	10	7	5	0
12.	20	14	10	11	20	16	17	17	10	8	18	1	0	3	5	3	3	0
13.	16	3	9	13	14	11	6	12	9	11	18	1	0	2	3	0	2	0
14.	13	16	15	15	22	24	16	16	13	9	12	10	0	0	0	0	0	0
15.	15	19	17	13	5	10	14	11	16	7	11	12	0	0	0	0	0	0
16.	17	11	18	18	13	8	6	12	8	15	4	10	0	0	0	0	0	0
17.	8	13	15	13	9	18	12	15	11	2	1	0	0	0	0	0	0	0
18.	2	17	14	17	19	17	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19.	1	8	11	14	4	1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pozn.: n - počet meraní,
S - semienko šalátu.

Príloha 4: Výsledky základného kontaktného testu semichronickej toxicity na šaláte pre rôzne koncentrované vzorky stavebného odpadu v za 96 hodín, pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ \text{C}$.

m [g]	c [g/l]	log c	I [%]
0,0509	12,73	1,1047	14,9266
0,0707	17,68	1,2476	22,7569
0,1037	25,92	1,4136	26,5090
0,2036	50,89	1,7066	31,9739
0,3023	75,57	1,8783	34,0946
0,5010	125,26	2,0978	37,5204
0,7025	175,62	2,2446	44,6166
1,0018	250,46	2,3987	57,7488
3,0024	750,60	2,8754	81,4029
5,0053	1251,32	3,0974	82,8711

Pozn.:

m - hmotnosti vzorky stavebného odpadu [g],
c - koncentrácie vzorky staveného odpadu [g/l],
I - inhibícia korienkov šalátu [%].

Príloha 5: Tabuľky s nameranými dĺžkami korienkov šalátu v mm pre rôzne hmotnosti vzorky popolčeka v základnom kontaktnom teste po 96 hod., pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ \text{C}$.

hmotnosti vzorky popolčeka [g]																
n S	0				0,05			0,07			0,1			0,2		
	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1.	20	24	28	20	9	20	20	14	6	13	5	7	11	4	7	8
2.	9	24	27	27	15	12	14	9	10	16	11	10	8	4	6	4
3.	14	26	27	28	12	14	18	12	14	12	8	9	9	3	7	8
4.	22	19	28	20	15	26	14	16	19	15	8	13	6	6	7	8
5.	21	22	12	33	16	11	23	18	19	12	11	16	10	10	8	5
6.	31	19	22	22	18	19	18	10	15	12	7	10	11	6	11	6
7.	25	21	5	28	14	8	19	11	14	11	11	14	9	7	10	6
8.	21	30	29	32	18	13	21	14	18	14	10	13	10	3	4	10
9.	18	23	15	26	17	15	8	9	10	13	8	11	4	8	8	9
10.	20	19	18	28	20	19	11	12	16	12	8	16	9	7	8	8
11.	21	21	20	26	8	23	10	13	14	6	10	7	14	9	9	4
12.	28	21	29	8	18	10	17	16	17	16	11	6	19	6	9	5
13.	22	16	31	24	10	12	15	15	16	18	9	11	12	8	5	3
14.	23	14	15	21	17	15	18	10	18	14	7	12	12	9	5	7
15.	25	17	26	22	10	14	7	8	14	12	9	8	11	8	6	6
16.	21	29	27	27	21	18	20	17	9	17	12	3	17	6	4	8
17.	20	22	26	12	15	18	23	11	12	5	9	10	14	8	3	4
18.	18	25	18	17	18	25	16	12	4	13	10	2	10	5	8	4
19.	19	18	20	19	25	13	18	19	16	0	15	1	9	4	9	2
20.	0	0	15	0	0	10	0	12	0	0	0	0	1	0	1	1

Pokračovanie prílohy 5:

hmotnosti vzorky popolčeka [g]																		
0,3				0,4			0,5			0,7			1			3		
n	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
S																		
1.	9	7	1	3	4	4	3	2	1	4	4	4	3	5	1	1	2	3
2.	2	5	2	3	5	5	6	8	5	1	3	4	3	4	4	9	2	2
3.	4	8	5	3	7	6	5	2	2	1	5	4	2	3	6	1	8	1
4.	4	3	4	4	2	6	1	2	4	4	4	3	2	4	6	6	1	3
5.	1	3	4	5	6	4	4	5	2	5	3	2	4	4	1	3	6	7
6.	7	3	4	3	5	4	5	4	5	1	5	4	1	4	3	2	3	5
7.	5	4	5	5	5	4	4	1	4	2	4	5	4	2	4	2	7	2
8.	1	2	4	6	5	9	7	3	1	4	4	4	5	5	5	3	1	1
9.	8	5	6	5	9	5	4	3	4	1	4	3	4	2	4	3	1	6
10.	7	1	5	3	2	4	3	5	5	2	4	8	3	3	4	2	4	8
11.	11	8	4	7	3	3	4	3	6	5	3	3	4	3	2	5	1	1
12.	8	4	5	6	3	4	3	4	8	1	4	1	3	2	2	2	3	2
13.	1	4	5	4	7	4	3	6	6	4	4	5	1	4	3	3	3	1
14.	3	5	4	7	3	6	4	5	4	3	6	1	1	6	1	3	2	1
15.	6	3	6	6	4	6	3	6	4	2	3	4	4	1	2	4	3	2
16.	3	5	2	4	2	10	7	9	5	3	4	0	4	3	1	2	4	3
17.	4	1	2	5	1	6	2	3	5	3	1	1	4	1	0	0	0	2
18.	8	7	1	4	0	1	1	2	3	2	0	0	5	0	0	0	0	0
19.	4	9	1	0	0	0	0	2	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0
20.	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pozn.:

n - počet meraní,
S - semienko šalátu.

Príloha 6: Výsledky základného kontaktného testu semichronickej toxicity na šaláte pre rôzne koncentrované vzorky popolčeka za 96 hod. a pri teplote $(24 \pm 2) ^\circ \text{C}$.

m [g]	c [g/l]	log c	I [%]
0,0512	17,06	1,2319	24,0099
0,0705	23,50	1,3711	38,1188
0,1040	34,66	1,5398	53,4653
0,2024	67,47	1,8291	69,3069
0,3015	100,49	2,0021	78,7129
0,4030	134,34	2,1282	79,6204
0,5028	167,61	2,2243	81,6832
0,7032	234,41	2,3700	86,0561
1,0026	334,20	2,5240	86,5512
3,0020	1000,68	3,0003	87,4588

Pozn.:

m - hmotnosti vzorky popolčeka [g],
c - koncentrácia vzorky popolčeka [g/l],
I - inhibícia korienkov šalátu [%].

Príloha 7: Tabuľky s dĺžkami korienkov cibule v mm pre rôzne koncentrované roztoky vodného výluhu stavebného odpadu v základnom teste za 72 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

koncentrácie roztokov vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l]																	
n cibuľa	0					2,5			5			10			20		
	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1.	37	22	31	36	29	23	14	27	30	14	13	20	18	11	25	27	8
2.	24	35	33	33	28	25	24	24	25	25	27	17	11	14	6	29	22
3.	15	32	22	24	29	15	23	21	16	20	22	28	12	18	14	7	28
4.	22	20	35	19	21	31	19	28	13	12	18	11	4	21	13	3	9
5.	33	15	19	26	20	16	16	11	14	28	23	13	6	11	8	3	5
6.	25	23	24	21	15	13	30	13	10	13	11	8	33	15	7	8	15

Pozn.:

n - počet meraní.

Pokračovanie prílohy 7:

koncentrácie roztokov vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l]														
n cibuľa	50			100			200			400			1000	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
1.	13	11	25	14	18	18	9	16	6	7	14	7	7	7
2.	8	7	21	6	6	13	22	11	10	6	8	8	12	5
3.	7	13	14	15	8	8	13	4	5	4	8	7	9	3
4.	26	15	10	8	11	12	14	12	10	8	8	4	5	12
5.	6	30	16	5	11	9	7	7	13	4	4	11	4	10
6.	19	5	9	24	4	14	4	7	4	3	5	9	2	3

Pozn.:

n - počet meraní.

Príloha 8: Výsledky základného testu semichronickej toxicity na cibuli pre rôzne koncentrované roztoky vodného výluhu stavebného odpadu za 72 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	log c	I [%]
2,5	0,3979	19,0538
5	0,6990	27,5174
10	1	41,1892
20	1,3010	48,5677
50	1,6990	54,4271
100	2	59,8524
200	2,3010	65,7118
500	2,6990	70,7031

Pozn.:

c - koncentrácia roztokov vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l],

I - inhibícia korienkov cibule [%].

Príloha 9: Tabuľky s dĺžkami korienkov cibule v mm pre rôzne koncentrované roztoky vodného výluhu popolčeka v základnom teste za 72 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

cibuľa	koncentrácie roztokov vodného výluhu popolčeka [ml/l]											
	0			2,5		5	10	20	50	100	200	500
1.	9	27	30	34	21	29	36	30	26	22	9	9
2.	17	26	29	28	24	28	28	41	25	18	8	6
3.	26	28	35	26	23	26	27	23	10	14	10	4
4.	27	22	34	25	13	19	14	14	8	19	19	5
5.	28	24	23	26	38	24	17	29	31	24	23	8
6.	23	21	21	16	22	13	13	25	30	27	6	2

Pozn.:

c - koncentrácia roztokov vodného výluhu popolčeka [ml/l],

I - inhibícia korienkov cibule [%].

Príloha 10: Výsledky základného testu semichronickej toxicity na cibuli pre rôzne koncentrované roztoky vodného výluhu popolčeka za 72 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	log c	I [%]
2,5	0,3979	12,1655
5	0,6990	30,6569
10	1	35,0365
20	1,3010	39,4161
50	1,6990	41,6058
100	2	50,3650
200	2,3010	57,6642
500	2,6990	69,5864
1000	3	71,1679

Pozn.:

c - koncentrácia roztokov vodného výluhu popolčeka [ml/l],

I - inhibícia korienkov cibule [%].

Príloha 11: Tabuľky s počtom živých nitel'nic z celkového počtu v uvedených časových intervaloch pôsobením rôzne koncentrovaných roztokov vodného výluhu stavebného odpadu.

c [ml/l]	čas pôsobenia [hod.]								
	0,5	1	2	3	4	5	6	7	21
0	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
2,5	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
5	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
10	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
20	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
50	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
100	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
200	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
500	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
1000	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

Pozn.:

počet živých nitel'nic/celkový počet nitel'nic,

c - koncentrácia vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l].

Pokračovanie prílohy 11:

c [ml/l]	čas pôsobenia [dni]							
	1	2	3	5	6	9	12	13
0	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8
2,5	8/8	8/8	8/8	7/8	7/8	4/8	4/8	4/8
5	8/8	8/8	7/8	7/8	7/8	6/8	6/8	6/8
10	8/8	8/8	7/8	6/8	6/8	5/8	5/8	5/8
20	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8	6/8	6/8
50	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8	6/8	6/8
100	8/8	7/8	8/8	7/8	7/8	6/8	5/8	5/8
200	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8	6/8	6/8
500	8/8	8/8	8/8	6/8	6/8	6/8	3/8	3/8
1000	8/8	8/8	7/8	6/8	5/8	5/8	2/8	1/8

Pozn.:

počet živých nitel'nic/celkový počet nitel'nic,

c - koncentrácia vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l].

Príloha 12: Výsledky testu akútnej toxicity na nitel'niciach pôsobením roztokov vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	n mŕtvych	log c	mortalita [%]
0	0	-	0
2,5	4	0,3979	50
5	2	0,6990	25
10	3	1	37,5
20	2	1,3010	25
50	2	1,6990	25
100	3	2	37,5
200	2	2,3010	25
500	5	2,6990	62,5
1000	6	3	75

Pozn.:

c - koncentrácia vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l],

n mŕtvych - počet mŕtvych nitel'nic.

Príloha 13: Tabuľky s počtom živých nitel'nic z celkového počtu v rôznych časových intervaloch pôsobením roztokov vodného výluhu popolčeka, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	čas pôsobenia [hod.]								
	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
0	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
2,5	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
5	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
10	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
20	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
50	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
100	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
200	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
500	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
1000	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

Pozn.:

počet živých nitel'nic/celkový počet nitel'nic,

c - koncentrácia vodného výluhu popolčeka [ml/l].

c [ml/l]	čas pôsobenia [dni]				
	1	2	7	8	9
0	8/8	7/8	7/8	7/8	7/8
2,5	7/8	7/8	7/8	7/8	7/8
5	8/8	8/8	7/8	7/8	7/8
10	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
20	8/8	7/8	7/8	7/8	7/8
50	7/8	6/8	6/8	6/8	6/8
100	7/8	6/8	5/8	6/8	6/8
200	8/8	7/8	7/8	5/8	5/8
500	8/8	7/8	7/8	5/8	3/8
1000	8/8	7/8	5/8	5/8	2/8

Pozn.:

počet živých nitel'nic/celkový počet nitel'nic,

c - koncentrácia vodného výluhu popolčeka [ml/l].

Príloha 14: Výsledky testu akútnej toxicity na nitel'niciach pôsobením rôzne koncentrovaných roztokov vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	n mŕtvych	log c	mortalita [%]
0	1	-	12,5
2,5	1	0,39794	12,5
5	1	0,69897	12,5
10	0	1	0
20	1	1,30103	12,5
50	2	1,69897	25
100	2	2	25
200	3	2,30103	37,5
500	5	2,69897	62,5
1000	6	3	75

Pozn.:

c - koncentrácia vodného výluhu popolčeka [ml/l],

n mŕtvych - počet mŕtvych nitel'nic.

Príloha 15: Počet imobilizovaných perloočiek pôsobením roztokov vodného výluhu stavebného odpadu v časových intervaloch 24 a 48 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	čas pôsobenia [hod.]			
	24		48	
	meranie			
	1.	2.	1.	2.
0	9/10	10/10	6/10	9/10
2,5	10/10	8/10	7/10	6/10
5	9/10	10/10	7/10	5/10
10	9/10	9/10	7/10	5/10
20	9/10	10/10	6/10	8/10
50	6/10	8/10	7/10	4/10
100	9/10	10/10	4/10	6/10
200	9/10	7/10	3/10	5/10
500	7/10	7/10	4/10	3/10

Pozn.:

počet živých perloočiek/celkový počet perloočiek,

c - koncentrácia vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l].

Príloha 16: Výsledky testu akútnej toxicity na perloočkách pôsobením roztokov vodného výluhu stavebného odpadu za 48 hodín, pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	log c	priemerný n mŕtvych	mortalita [%]	probity
0		2,5	25	4,326
2,5	0,39794	3,5	35	4,615
5	0,69897	4	40	4,747
10	1	4	40	4,747
20	1,30103	3	30	4,476
50	1,69897	4,5	45	4,874
100	2	5	50	5,000
200	2,30103	6	60	5,253
500	2,69897	6,5	65	5,385

Pozn.:

c - koncentrácia vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l],

n mŕtvych - počet mŕtvych perloočiek.

Príloha 17: Počet imobilizovaných perloočiek pôsobením rôzne koncentrovaných roztokov vodného výluhu popolčeka za 24 a 48 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	čas pôsobenia [hod.]			
	24		48	
	meranie			
	1.	2.	1.	2.
0	9/10	9/10	6/10	8/10
2,5	10/10	9/10	7/10	6/10
5	10/10	10/10	7/10	5/10
10	10/10	8/10	7/10	5/10
20	9/10	9/10	6/10	8/10
50	8/10	10/10	4/10	8/10
100	9/10	7/10	7/10	4/10
200	8/10	7/10	3/10	5/10
500	8/10	9/10	4/10	3/10

Pozn.:

počet živých perloočiek/celkový počet perloočiek,

c - koncentrácia vodného výluhu popolčeka [ml/l].

Príloha 18: Výsledky testu akútnej toxicity na perloočkách pôsobením roztokov vodného výluhu stavebného odpadu za 48 hod., pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

c [ml/l]	log c	priemerný n mŕtvych	mortalita [%]	probity
0		3	30	4,476
2,5	0,39794	3,5	35	4,615
5	0,69897	4	40	4,747
10	1	4	40	4,747
20	1,30103	3	30	4,476
50	1,69897	4	40	4,747
100	2	4,5	45	4,874
200	2,30103	6	60	5,253
500	2,69897	6,5	65	5,385

Pozn.:

c - koncentrácia vodného výluhu stavebného odpadu [ml/l],

n mŕtvych - počet mŕtvych perloočiek.

9. ZOZNAM OBRÁZKOV

Obr. 1: Diagram postupu hodnotenia nebezpečnej vlastnosti H14 Ekotoxická [1].....	12
Obr. 2: Znárodnenie možných kriviek dávka-odpoveď [31]	14
Obr. 3: Šalát hlávkový (<i>Lactuca sativa</i> L.) [50]	15
Obr. 4: Kvet a plod cibule kuchynskej (<i>Allium cepa</i> L.) [54].....	16
Obr. 5: Niteľnica (<i>Tubifex tubifex</i>) [56]	17
Obr. 6: Perloočka (<i>Daphnia magna</i>) [58]	18
Obr. 7: Základný kontaktný test semichronickej toxicity na <i>Lactuca sativa</i> L. pre vzorku popolčeka o koncentráciách 334,20 a 1000,68 g/l za 96 hod. pri teplote (24 ± 2) °C [foto autorka].....	29
Obr. 8: Základný test semichronickej toxicity na <i>Allium cepa</i> L. pre vodný výluh stavebného odpadu o rozsahu koncentrácií 2,5 - 1000 ml/l vrátane kontroly po 72 hod. pri teplote (20 ± 2) °C [foto autorka]	31
Obr. 9: Test akútnej toxicity na <i>Tubifex tubifex</i> po 3 hodinách od začiatku testu pre vodný výluh stavebného odpadu pri teplote (20 ± 2) °C [foto autorka]	32
Obr. 10: Niteľnice v okysličenej vodovodnej vode pred zahájením testu pri teplote (20 ± 2) °C [foto autorka].....	33
Obr. 11: Adsorpčne-desorpčná izoterma vzorky popolčeka	38
Obr. 12: Cibulky po 72 hod. orientačnom teste vo vodnom výluhu stavebného odpadu pred zahájením merania dĺžky korienkov a pri teplote (20 ± 2) °C [foto autorka]	44

10. ZOZNAM TABULIEK

Tab. 1: Skladba zmiešaného stavebného a demolačného odpadu [2]	4
Tab. 2: Hlavné nebezpečné odpady produkované pri demoláciách budov a nebezpečné látky obsiahnuté v týchto odpadoch [15]	6
Tab. 3: Rozdelenie chemických látok do kategórií podľa akútnej toxicity pre vodné organizmy [29]	7
Tab. 4: Zásobné roztoky solí pre testy na semenách <i>Lactuca sativa</i> L. [49]	22
Tab. 5: Výsledky stanovenia podielu sušiny, vlhkosti a množstva vylúhovacej kvapaliny vzoriek	35
Tab. 6: Namerané hodnoty pH vodných výluhov vzoriek	35
Tab. 7: Namerané hodnoty vodivosti a ďalších parametrov vodných výluhov vzoriek	36
Tab. 8: Obsahy stanovených prvkov a zlúčenín vo vzorke popolčeka metódou XRFS	36
Tab. 9: Obsah zlúčenín vo vzorke stavebného odpadu z XRFS analýzy	37
Tab. 10: Obsahy stanovených prvkov vo vodných výluhoch vzoriek metódou AAS	37
Tab. 11: Výsledky textúrnej analýzy pre vzorky stavebného odpadu a popolčeka	39
Tab. 12: Vyhodnotenie kontaktného testu semichronickej toxicity na <i>Lactuca sativa</i> L. pre vzorku stavebného odpadu za 96 hod. zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti	41
Tab. 13: Vyhodnotenie kontaktného testu semichronickej toxicity na <i>Lactuca sativa</i> L. pre vzorku popolčeka za 96 hodín zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti	43
Tab. 14: Vyhodnotenie semichronického testu toxicity na <i>Allium cepa</i> L. pre vodný výluh stavebného odpadu za 72 hod. z lineárnej závislosti.....	44
Tab. 15: Vyhodnotenie semichronického testu toxicity na <i>Allium cepa</i> L. pre vodný výluh popolčeka za 72 hodín zo sigmoidálnej a lineárnej závislosti	46
Tab. 16: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na nitelnicích pre vodný výluh stavebného odpadu za 12 dní pri teplote (20 ± 2) °C zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí	48
Tab. 17: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na nitelnicích pre vodný výluh popolčeka za 9 dní zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí.....	51
Tab. 18: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na perloočkách pre vodný výluh stavebného odpadu za 48 hod. zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí	53
Tab. 19: Vyhodnotenie akútneho testu toxicity na perloočkách pre vodný výluh popolčeka za 48 hod. zo sigmoidálnej a lineárnych závislostí	55
Tab. 20: Porovnanie výsledkov testov vzoriek popolčeka a stavebného odpadu s výsledkami vybraných štúdií	56

11. ZOZNAM GRAFOV

Graf 1: Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Lactuca sativa</i> L. v % na logaritme koncentrácie stavebného odpadu po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.	40
Graf 2: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Lactuca sativa</i> L. v % na logaritme koncentrácie stavebného odpadu po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.	40
Graf 3: Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Lactuca sativa</i> L. v % na logaritme koncentrácie popolčeka po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.	42
Graf 4: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Lactuca sativa</i> L. v % na logaritme koncentrácie popolčeka po 96 hod. a pri teplote (24 ± 2) °C.	42
Graf 5: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Allium cepa</i> L. v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 72 hod., pri teplote (20 ± 2) °C.	44
Graf 6: Sigmoidálna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Allium cepa</i> L. v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka pri teplote (20 ± 2) °C po 72 hodinách.	45
Graf 7: Lineárna závislosť inhibície rastu korienkov <i>Allium cepa</i> L. v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka pri teplote (20 ± 2) °C po 72 hodinách.	46
Graf 8: Sigmoidálna závislosť mortality nitel'nic v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote (20 ± 2) °C.	47
Graf 9: Lineárna závislosť mortality nitel'nic v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote (20 ± 2) °C.	48
Graf 10: Lineárna závislosť mortality nitel'nic v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 12 dňoch, pri teplote (20 ± 2) °C.	48
Graf 11: Sigmoidálna závislosť mortality nitel'nic v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch pri teplote (20 ± 2) °C.	49
Graf 12: Lineárna závislosť mortality nitel'nic v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch pri teplote (20 ± 2) °C.	50
Graf 13: Lineárna závislosť mortality nitel'nic v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 9 dňoch pri teplote (20 ± 2) °C.	50
Graf 14: Sigmoidálna závislosť mortality <i>Daphnia magna</i> v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod. pri teplote (20 ± 2) °C.	52
Graf 15: Lineárna závislosť mortality <i>Daphnia magna</i> v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod. a pri teplote (20 ± 2) °C.	52
Graf 16: Lineárna závislosť mortality <i>Daphnia magna</i> v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu stavebného odpadu po 48 hod. a pri teplote (20 ± 2) °C.	53

Graf 17: Sigmoidálna závislosť mortality <i>Daphnia magna</i> v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 48 hod. a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$	54
Graf 18: Lineárna závislosť mortality <i>Daphnia magna</i> v % na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 48 hod a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$	54
Graf 19: Lineárna závislosť mortality <i>Daphnia magna</i> v probitoch na logaritme koncentrácie vodného výluhu popolčeka po 48 hod a pri teplote $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$	55